

## **Bases morfológicas de la miocarditis chagásica con especial referencia a los estudios en autopsias y biopsias realizados en Venezuela.**

### **Claudia Antonieta Blandenier Bosson de Suárez**

Profesor Titular. Facultad de Medicina, UCV. Unidad de Miocardiopatías” Dr. Juan José Puigbó”. Hospital Universitario de Caracas.

E- M: claudia1937@cantv.net

*“El daño de la enfermedad de Chagas entre nosotros es semejante a la bomba que cayó en Hiroshima y esto sin estruendo, sin llamaradas, sin columnas de humo, sino de una manera silente y sórdida.....*

*.....ha sido de lamentar que nuestros trabajos en el estado por desenvolverse en condiciones precarias ; no haya dispuesto de un anatomopatólogo y hayamos tenido que contemplar como se pierde el importante material con sus secretos y con sus verdades”.....*

*Francisco Torrealba, San Juan de los Morros, 1956*

#### **DEDICATORIA:**

Este trabajo está dedicado a mis maestros: Dr. Juan José Puigbó Ronsó, al Dr. Armado Domínguez Capdevielle (†) y a mi esposo, Dr. José Ángel Suárez.

A mi exdiscípulo y entrañable amigo, Dr. Fernando Merino Niño, lamentablemente fallecido quien colaboró en mis trabajos sobre Chagas.



## Introducción

Según el Dr. Félix Pifano, la enfermedad de Chagas (ECh) en nuestro país tiene una distribución geográfica muy extensa en la población rural venezolana, situada en el centro de la región neotrópica donde convergen representantes biológicos de tres subregiones: la antillana o caribeña, la andina y la amazónica.<sup>1</sup>

La ECh comprobada por primera vez en Venezuela por Enrique Tejera Guevara en 1918, es producida por el *Tripanosoma cruzi* (T cruzi), aunque existen otras tripanosomiasis humanas en Venezuela como la causada por el *T rangeli* (Tejera, 1920), aparentemente no patógena y otras formas encontradas en reservorios vertebrados no humanos. Tejera Guevara estudió la enfermedad primeramente en los estados Zulia, Trujillo y Miranda y posteriormente, fue ampliamente estudiada y publicada por los Dres. José Francisco Torrealba en los estados Guárico y Anzoátegui y en Yaracuy por Félix Pifano.<sup>2,3</sup> (Figura 1).



De todas las especies de triatomíneos (vectores de hábitos silvestres), el *Rhodnius prolixus* es considerado como el principal transmisor del T cruzi, sin embargo, hace más de tres décadas, en plena ciudad de Barquisimeto, se encontró el *Rhodnius neivai* infectado con T cruzi, lo que constituyó un motivo de preocupación, por cuanto se consideró que la distribución de la enfermedad no estaba solo limitada a las zonas rurales.<sup>4</sup> Hecho que no debía extrañarse cuando el mismo Santos Dominici en la década del 40, refirió que el mismo y varios colegas “habían visto el vector en los patios del mismo Caracas, en donde en vuelos nocturnos penetraban silenciosos”<sup>5</sup>

En estas últimas décadas (1996,1997, 2000) se han hecho avances en el conocimiento acerca de la distribución y hábitat de los vectores en nuestro país, como lo es, su domiciliación en las grandes ciudades como Caracas y comarcas vecinas. Así como el estudio de los reservorios, los cuales como es bien conocido, son de tres tipos: silvestres, sinantrópicos y domésticos.<sup>6-8</sup>

(Figura 2).



Carrasco y col consideran que aun cuando el vector principal es el *Rhodnius prolixus*, en el valle de Caracas y también en el Estado Miranda, se encuentra y predomina el *Panstrongylus geniculatus*. Las investigaciones de Carrasco son importantes, ya que implican un gran riesgo para los habitantes de la gran Caracas, una ciudad altamente poblada donde la rata *Rattus rattus*, es de distribución extensa en casi todos los ámbitos, así como la presencia de rabipelados, *Didelphis marsupialis*, reservorios, ambos, de alimentación del triatomino incluyendo chinches que ya han sido descritos infectados en esta ciudad.<sup>9, 10</sup>

Después de más de 100 años de su descubrimiento, la ECh ha aumentado especialmente en la Amazonía y en la periferia de las grandes ciudades como Caracas. En Venezuela, actualmente (2008) se ha considerado como una enfermedad emergente.<sup>11</sup> Son 6 millones de personas que viven en 198 municipios de 14 entidades federales, expuestos a la enfermedad, la cual ha adquirido especial gravedad con las dos últimas epidemias de Chagas por transmisión oral (2009,2010), en dos planteles educativos de La Gran Caracas y región costera del Estado Vargas, donde se vieron involucrados 80 y 47 individuos respectivamente con el fallecimiento de cuatro de ellos en la última epidemia.<sup>12,13</sup> Dos casos fueron autopsiados, uno de los cuales fue exhaustivamente analizado y documentado.<sup>14,15</sup> También se tuvo noticias de la presencia en mayo de 2010, de un brote de ECh aguda en la Parroquia de Antímano de Caracas, el cual fue controlado. Igualmente en el mes de noviembre del mismo año, se presentó un brote de ECh aguda por transmisión oral, en el Sector la Palma del Municipio Junín del Estado Táchira en el cual falleció una menor de edad. Según Alarcón de Noya y colaboradores, han ocurrido cuatro eventos desde el año 2007 (hasta este año, 2012) y se han identificado 228 casos asociados a transmisión oral con 6 fallecimientos.<sup>16</sup>

Consideramos que estas características ambientales en nuestro país, lo convierten en un ámbito epidemiológico de alta endemia chagásica, con el agravante de que en Venezuela, al igual que en Bolivia y Perú, aún no se ha dado la interrupción de la transmisión vectorial del T cruzi.

Es de hacer notar que en tantos años de estudios, no se había planteado en nuestro país la forma de transmisión oral humana de la ECh, a pesar de haberse realizado numerosos trabajos experimentales sobre este

tópico desde 1952 a 1971, en la Universidad del Zulia y en el Departamento de Parasitología y Zoología Médica de la Escuela de Ciencias Veterinarias del Centro Experimental de Estudios Superiores de Barquisimeto.<sup>7-27</sup>

### **Visión panorámica de la anatomía patológica de la miocarditis chagastica en Venezuela. Recuento histórico.**

Las características morfológicas más relevantes a nivel subcelular, celular, tisular y orgánico cardíacas, han sido descritas en cada una de las fases clínicas de la ECh (fase aguda, intermedia o silente y crónica), en forma coincidente tanto en el material de autopsia como en el de biopsias endomiocárdicas, en la mayoría de los países latinoamericanos donde la enfermedad es endémica como: Brasil, Argentina, Honduras, Venezuela, Guatemala, Bolivia y otros. Las características anatomopatológicas de la miocarditis chagastica fueron en un principio, descritas extensivamente, antes de la década del 40, por patólogos brasileños como Chagas y Torres, Vianna y Mazza en Argentina.<sup>28-31</sup>

En Venezuela, los aspectos anatomopatológicos de la miocarditis chagastica observados y descritos como cambios inespecíficos, tomaron mucho tiempo en establecerse y ser aceptados definitivamente en el ámbito de la patología nacional. Todavía en la década del 40, la etiología chagásica de la miocarditis crónica en nuestro país no había sido comprobada desde el punto de vista anatomopatológico de modo fehaciente, sobre todo de acuerdo con los parámetros histopatológicos exigidos por los patólogos alemanes, quienes ejercieron una notable influencia sobre la orientación de la patología nacional y constituyeron una barrera opuesta a las investigaciones realizadas por epidemiólogos, entomólogos y clínicos, liderados por los sabios José Francisco Torrealba y Félix Pifano.<sup>32,33</sup> En 1947, Luís Manuel Carbonell, patólogo, comprueba la presencia del parásito en 2/5 corazones de autopsias de chagásicos crónicos, estudiados en forma seriada y exhaustiva.<sup>34</sup> Para el año 1957, Karl Brass (patólogo alemán radicado en Valencia) aceptó que el 90% de los casos de miocarditis crónica, eran de etiología chagásica, es decir, que el *T cruzi* era el factor causante de la enfermedad.<sup>35</sup>

Estas conclusiones se hicieron a la par de numerosas investigaciones epidemiológicas, clínicas y especialmente de los trabajos realizados por

Maekelt sobre la reacción de desviación del complemento para el diagnóstico de la forma crónica de la ECh entre otros.<sup>36</sup>

En la década del 60-70, considerada como una “Época de oro de la patología de la ECh en Venezuela”, los aspectos macroscópicos e histológicos de la miocarditis chagásica se definieron definitivamente, cuando varios grupos de investigadores (epidemiólogos, parasitólogos, cardiólogos, radiólogos, anatomopatólogos, inmunólogos, veterinarios y otros investigadores) unieron los hallazgos clínicos, epidemiológicos de sus investigaciones con los anatomopatológicos de autopsias humanas y experimentales, hasta llegar a conclusiones muy parecidas a las observadas en el Brasil y Argentina, países donde la investigación sobre la ECh había estado a la vanguardia desde que Carlos Chagas descubriera la enfermedad que lleva su nombre, en 1909.<sup>37</sup>

En la década del 70-80, con el advenimiento de la biopsia endomiocárdica, se abrió un amplio espectro de hallazgos a nivel subcelular que demostró el carácter progresivo y evolutivo de las lesiones relacionado con el desarrollo de los hallazgos clínicos. Este campo abrió las puertas a numerosas investigaciones que aclararon la patogénesis de la enfermedad a nivel subcelular y molecular.<sup>38</sup>

### **Prevalencia de la Miocarditis Chagásica en autopsias en Venezuela.**

Actualmente, desde el punto de vista anatomopatológico, la visión que se tiene de la enfermedad en nuestro país, está sesgada, porque al igual que en la mayoría de los centros hospitalarios de los países del mundo, se ha evidenciado una considerable y progresiva disminución de autopsias. En el IAP (Instituto Anatomopatológico, UCV), cinco estudios en autopsias sobre las enfermedades del miocardio, han demostrado un descenso de la frecuencia de casos de miocardiopatía chagásica crónica que oscila entre 4 y 0,9% para el año 2001. La última serie estudiada en el IAP data de 1999.<sup>39-41</sup> (Figuras 3 y 4).

En los últimos diez años, han sido pocos los casos de miocarditis chagásica diagnosticados en autopsias y menos aún en biopsias endomiocárdicas. Es de considerar que este análisis se hizo en una población del centro-norte de Venezuela, en la gran Caracas, donde no confluyen todos los casos de esta enfermedad provenientes de zonas altamente endémicas en el interior del país.

Año	1956 1965	1966 1976	1979 1985	1989 1993	1994 1999	Todos
Número de autopsias	3800	5000	3000	1618	1891	15.309
MCHC	160	112	39	13	11	335
%	4.2	2.3	1.3	0.8	0.6	2.2

**MCHC:** miocarditis chagásica crónica.

**Figura 3.** Frecuencia de la miocarditis Chagásica en 15.309 autopsias (1956-1999)

Suárez JA, Suárez C, Puigbó JJ. Sección de Patología Cardiovascular. IAP-UCV.Unidad de Miocardiopatías. HUC

Año	1956 1965	1966 1976	1979 1985	1989 1993	1994 1999	Todos
Enfermedades Del Miocardio	210	263	102	39	32	646
M no CH	50 (24.0)	151 (57.0)	63 (62.0)	26 (67.0)	21 (66.0)	311 (48.0)
M CH	160 (76.0)	112 (43.0)	39 (38.0)	13 (33.0)	11 (34.0)	335 (52.0)

**M no CH:** Miocardiopatías no chagásicas ; **MCH :** miocarditis chagásica crónica.

**Figura 4** Distribución de las enfermedades del miocardio en 15.309 autopsias realizadas en 5 períodos (años).

Suárez JA, Suárez C, Puigbó JJ. Sección de Patología Cardiovascular. IAP- UCV. Unidad de Miocardiopatías . HUC

No tenemos noticias de otros estudios de esta naturaleza en series grandes de autopsias, realizados en ningún centro hospitalario público ni privado del país en las dos últimas décadas. Por otra parte, si bien, la anatomía patológica tradicional contribuyó a reproducir la enfermedad en animales de experimentación, en nuestros días, es más importante, la investigación sobre los fenómenos inflamatorios e inmunopatológicos causados por el *T cruzi* en los tejidos del miocardio, sobretodo aquellas relacionadas con la resolución de la inflamación y/o infección y el pronóstico de la enfermedad, de allí la importancia que ha jugado la biología molecular. Actualmente se habla de medidas preventivas para el desarrollo de las lesiones miocárdicas.

Por otro lado, en los últimos años, han sido reportados y publicados casos, de miocarditis chagásica aguda y crónica en ciudades del interior del país donde la enfermedad ha presentado un repunte de casos agudos y esta situación ha sido tomada en cuenta por un grupo considerable de investigadores de todas las disciplinas, quienes han tomado medidas para controlar la enfermedad considerada como emergente.

En el año 2000, se realizó el Primer Consenso Nacional sobre la ECh con la participación de un grupo selecto multidisciplinario representante de las Instituciones que trabajan e investigan sobre esta enfermedad en nuestro país.<sup>42</sup> Al año siguiente, la Declaración de Barquisimeto puntualizó el escenario existente en Venezuela respecto a esta enfermedad, considerada como un problema de salud pública, y se fijaron los lineamientos a seguir en forma integrada con los países latinoamericanos.<sup>43</sup>

A la luz de la situación actual, las investigaciones tendentes a la prevención de la enfermedad desde el punto de vista epidemiológico y de vacunación, juegan un papel importante para su erradicación definitiva. En América Latina, el principal objetivo en la lucha antichagásica, es la interrupción de la transmisión del parásito a través del control de los vectores que predominan en cada país o región, objetivo no alcanzado en Venezuela como lo expresamos anteriormente. Los organismos internacionales tales como el ALCHA, EL Proyecto de Cooperación Internacional, INCOSUR/CHAGAS, Programa de UNDP, "Médicos sin fronteras" y otros están abocados a esta finalidad.



Para los años 2009 y 2010 tuvimos la ocasión de examinar desde el punto de vista histopatológico, muestras de miocardio de casos agudos de miocarditis en brotes de Chagas por transmisión oral como fue referido anteriormente. Estas experiencias dieron pie a nuevas investigaciones y a sacar de la gaveta, trabajos de la década del 60, olvidados, pero de una gran importancia en el conocimiento que se tiene de la cadena de transmisión de la enfermedad.

Es obvio que la anatomía patológica ocupa un lugar complementario dentro de los grupos de investigación multidisciplinarios.

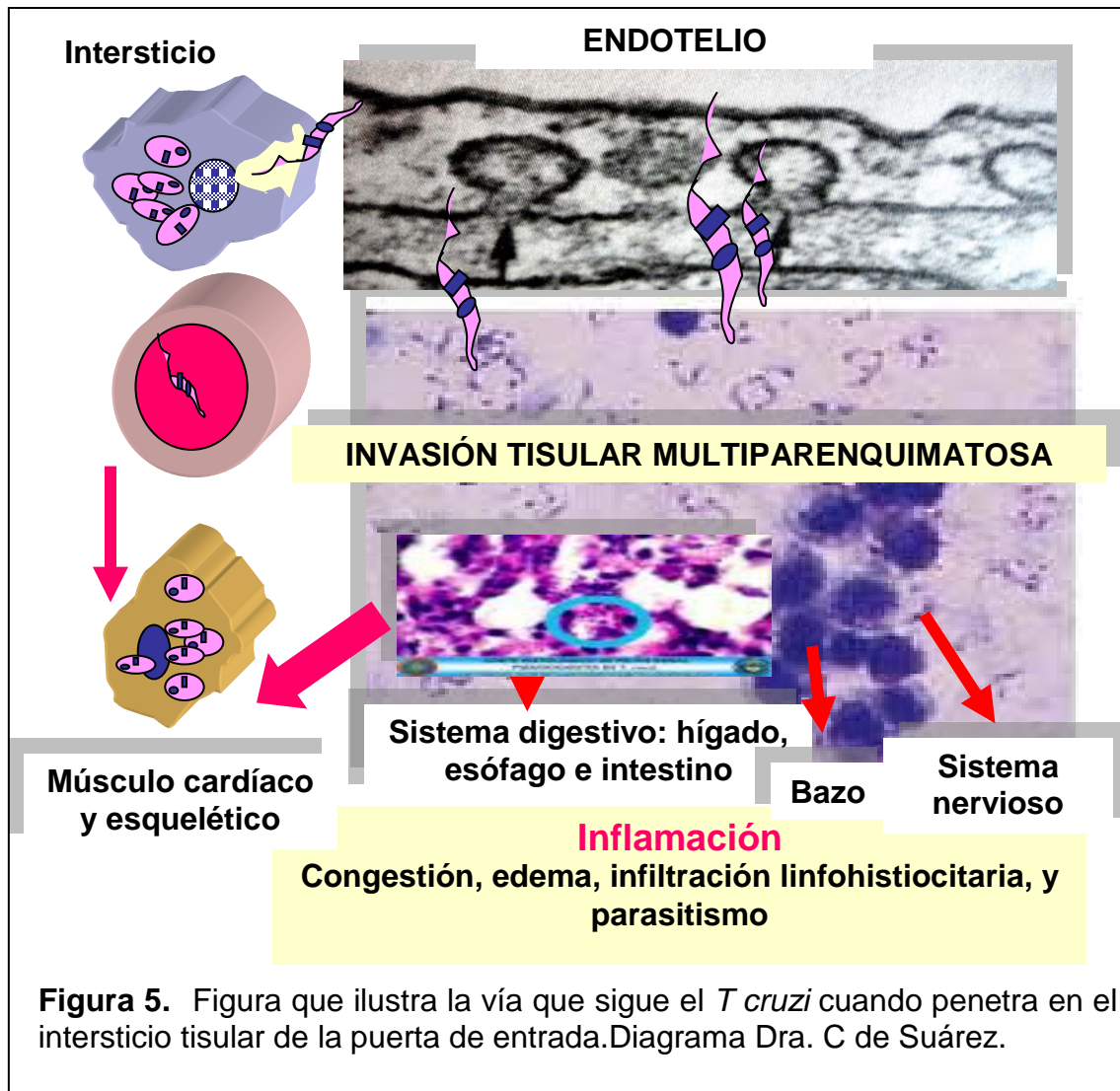
### **Patología cardíaca de la enfermedad de Chagas. Investigaciones en autopsias. Correlaciones anatómo-clínicas.**

Los aspectos morfológicos del corazón varían de acuerdo a las fases de la historia natural de la cardiopatía chagásica (aguda y crónica).

### **Morfología e histopatología de la vía de penetración del *Tripanosoma cruzi*.**

La transmisión de la enfermedad puede ser **natural** (dérmica, trasplacentaria, conjuntival, por vía oral y por transmisión sexual) y **adquirida** (transfusiones de sangre, trasplantes de órganos y accidentes de laboratorio)  
44,45

La penetración tisular del *T cruzi* cualquiera que sea su vía de invasión, se hace primero en las células retículo-endoteliales locales, para luego multiplicarse y penetrar el endotelio vascular de los pequeños vasos intraparenquimatosos como los capilares ,precapilares etc, para alcanzar la circulación sistémica e invadir a varios parénquimas de acuerdo a su tropismo (músculo esquelético y cardíaco, sistema digestivo, órganos linfohematopoyéticos y sistema nervioso), donde desencadenan la cascada de los eventos del proceso inflamatorio e inmunológico, así como la respuesta de la matriz extracelular progresiva (cicatrización). (Figura 5).

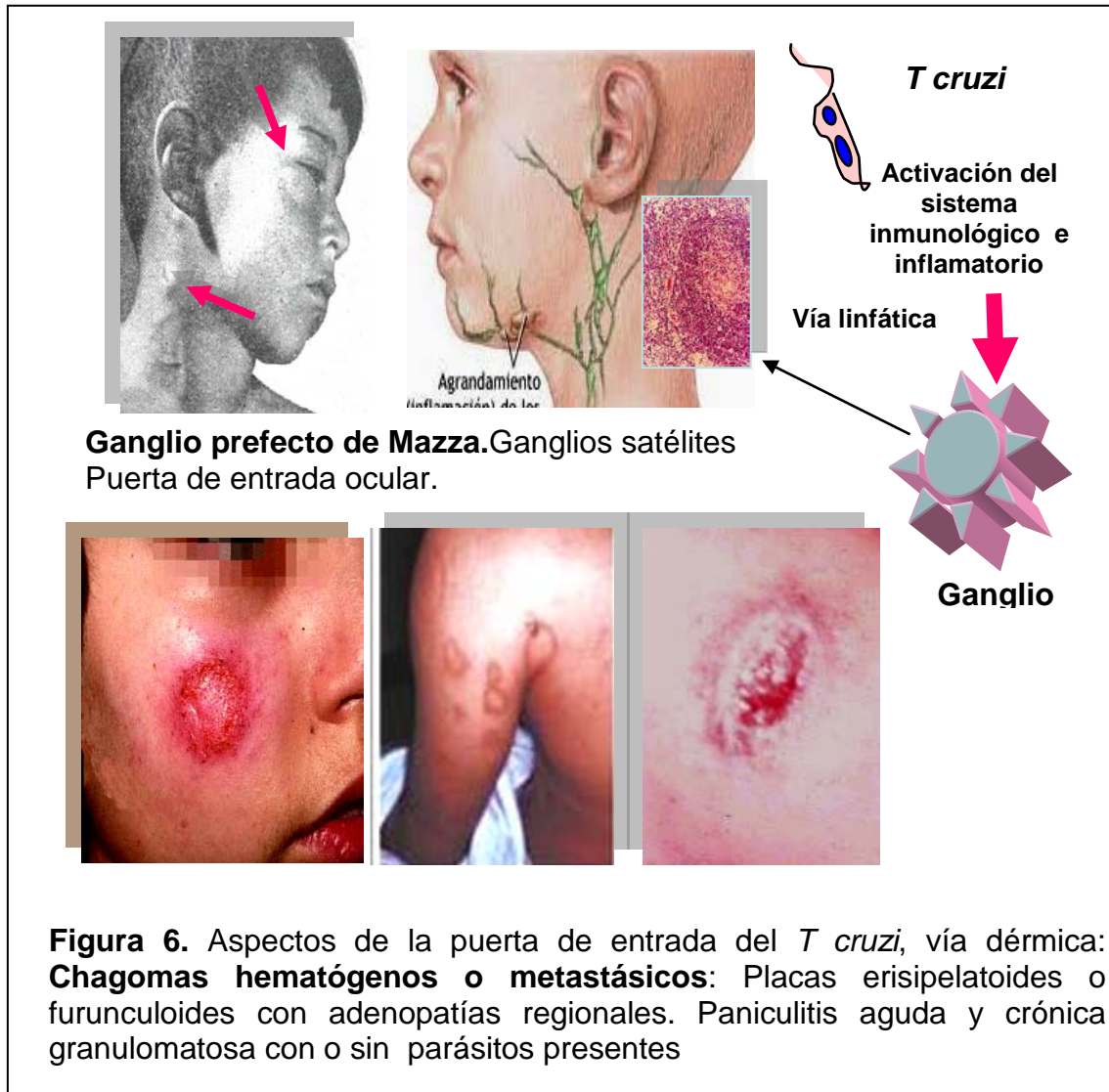


### Patología/morfología de la penetración del *T. cruzi* en el organismo humano, vía dérmica.

La transmisión vectorial de la ECh es la más frecuente. La penetración del *T. cruzi* contenido en las heces fecales del vector, deja evidencias en la piel en el sitio de penetración, acentuados por el rascado. Estas formas clínicas aparentes de la penetración de *T. cruzi* por la piel o mucosas se caracterizan por: El Complejo oftalmoganglionar (Romaña-Mazza), el lipochagoma geniano y los Chagomas hematógenos o metastásicos.

Los chagomas de inoculación, los chagomas metastásicos y otras lesiones de la piel varían de aspectos clínicos como: placas erisipelatoides o furunculoides, todos los cuales se acompañan de adenopatías regionales. El

Chagoma de inoculación es un nódulo o una placa con inflamación aguda o subaguda de la piel con parásitos presentes que pueden presentarse macroscópicamente como una lesión de tipo erisipelatoide con zona central necrótica. Los Chagomas hematógenos o metastásicos: se caracterizan histopatológicamente por una paniculitis aguda o crónica granulomatosa sin parásitos presentes. (Figura 6).



El chagoma de inoculación más conocido y frecuente es el denominado: Complejo o síndrome oftalmoganglionar (Romaña-Mazza) o Signo de Romaña- Signo del ojo, causado por la penetración del *T cruzi* en piel del párpado o en la conjuntiva. El Complejo oftalmoganglionar comprende los siguientes elementos patológicos:

- Edema de ambos párpados, unilateral, por inflamación aguda del tejido subcutáneo.
- Eritema (tinte violáceo) de origen vascular inflamatorio.
- Adenopatía satélite preauricular, cervical, submaxilar etc por linfadenitis aguda o crónica de los ganglios de la cadena del cuello.
- Adenopatía grande en cuello que resalta sobre las demás denominado ganglio satélite.(ganglio perfecto de Mazza)<sup>46</sup>
- Conjuntivitis no supurativa, de variable intensidad
- Dacrioadenitis o inflamación aguda severa con necrosis de tejido de la glándula lacrimal denominado también, infarto de glándula lagrimal.
- Dacriosistitis o colección lagrimal serosa causada por inflamación aguda del tejido glandular.
- Edema inflamatorio de hemicara.
- Exoftalmo por proceso inflamatorio del tejido celular retroorbitario.

(Figura 7).



### Evidencias histopatológicas experimentales de la penetración del *T cruzi* por vía oral.

En el ciclo selvático y en animales peridomésticos y domésticos, la vía oral de la enfermedad, es el medio de transmisión habitual y en el humano, es conocida desde 1936 y ha sido comprobada con evidencias epidemiológicas, clínicas y experimentales.<sup>47</sup> En el humano, la transmisión de la ECh, se hace a través de alimentos contaminados (leche, jugos etc.) o de utensilios utilizados en la manipulación de esqueletos de mamíferos infectados con las heces o secreciones de los reservorios del *T cruzi*. Ha sido también mencionada la transmisión por medio de las patas y aparato bucal de moscas y otros insectos que han estado en contacto con heces y orín infectados y donde el parásito sobrevive como ha sido demostrado experimentalmente.<sup>48,49</sup> Igualmente por la ingestión de carne cruda o mal cocida de mamíferos infectados; consumo de sangre de animales infectados como armadillos y zarigüeyas (animales que poseen una función terapéutica, según algunos grupos indígenas en la Amazonía y en Colombia). También, se menciona la trituración de los vectores infectados con la caña de azúcar donde habitan usualmente, al elaborar jugos.

Las formas de cultivo también pueden ser transmitidas por vía oral accidentalmente, pero son menos patógenas que las heces de vectores infectadas.



**Figura 8 .** Mecanismos de transmisión oral de la enfermedad de Chagas: ingesta de alimentos contaminados con heces o secreciones de los reservorios o por medio de las patas y aparato bucal de moscas u otro insecto o trituración de los vectores( caña de azúcar).

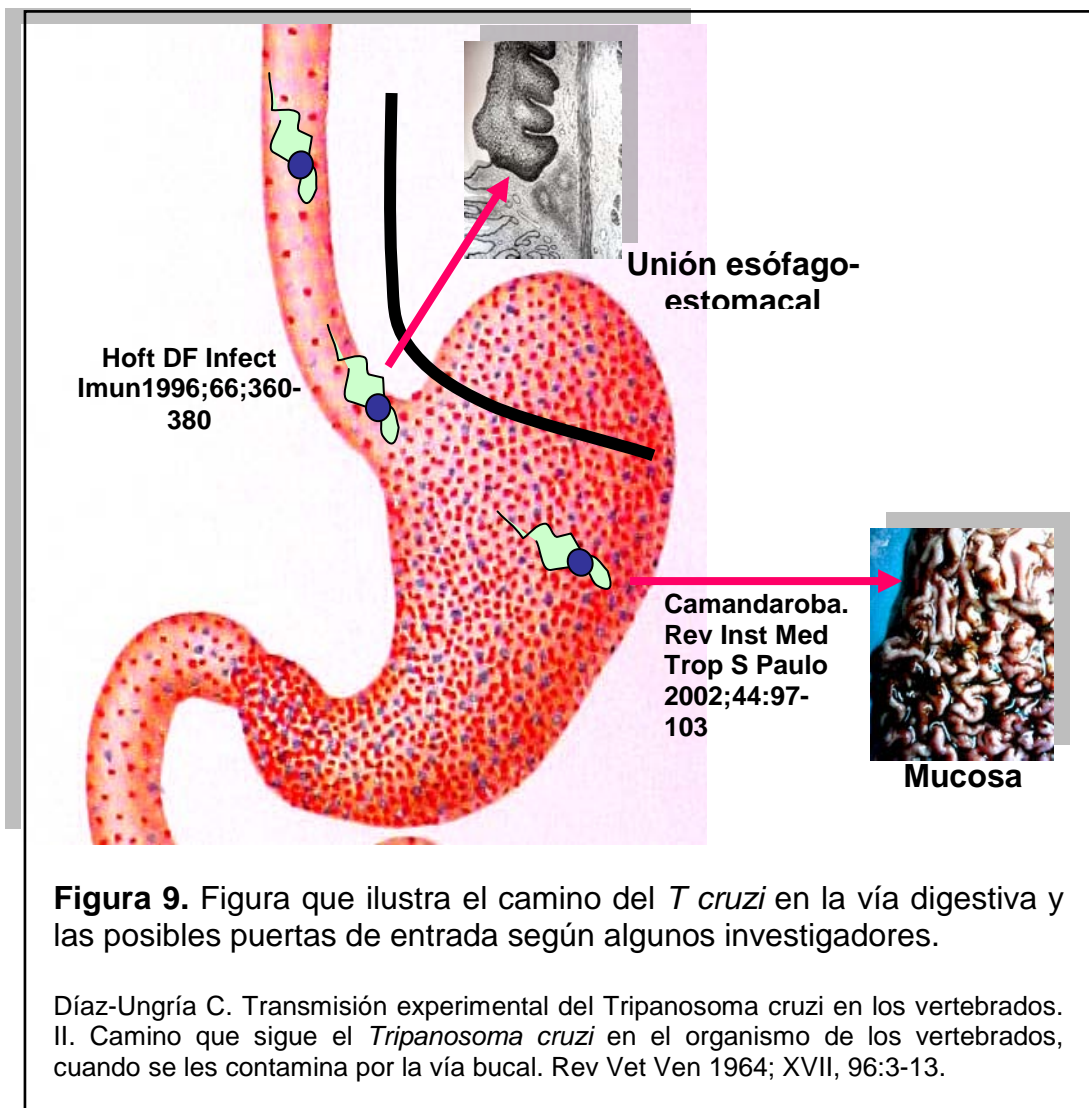
A la luz de los conocimientos y acontecimientos actuales, algunos autores consideran la ECh como una enfermedad de origen alimentario y los mecanismos de penetración a través de la mucosa gástrica han sido recientemente publicados.<sup>50</sup>

Se ha demostrado desde hace muchos años, que las formas metacíclicas infectivas de *T cruzi* son capaces de invadir el organismo humano o de un animal experimental, por la vía gástrica, causar enfermedad y más aún, producir un estado de inmunidad protectora. Ha sido evidenciada su presencia en diferentes estadios en las células del epitelio de la mucosa gástrica.<sup>51</sup> Todos estos fenómenos son el resultado de la capacidad de invasión de la mucosa gástrica por el parásito. Díaz-Ungría y col demostraron que el *T cruzi* es capaz de transmitirse por vía bucal a una gran cantidad de vertebrados. La contaminación bucal no se realiza a través de la mucosa faríngea. Según sus experimentos, los tripanosomas sobrepasan los jugos gástricos y pasan a la circulación del sistema porta-hepático a nivel del intestino. Una vez en el parénquima hepático, constituyen el foco primario causando una hepatitis intersticial demostrada histopatológicamente. Este foco evoluciona, los tripanosomas invaden la sangre para distribuirse por el organismo y localizarse en la musculatura especialmente en la cardíaca.<sup>52, 53</sup>

El mecanismo íntimo de estos procesos fue estudiado recientemente. Según los experimentos, el tripomastigote metacíclico penetra en la célula del epitelio mucoso del estomago donde se replica, en forma de amastigotes y posteriormente se disemina por el organismo, vía sanguínea. Se comprobó que los tripomastigotes metacíclicos presentes en las heces de los vectores son capaces de producir la infección en el 100.0% de los animales al ser transmitidos por la vía oral, Sin embargo no ocurre de esta manera con las formas tripomastigotes sanguíneas, las cuales raramente causan infección por esta vía. Este hecho sugiere que las formas metacíclicas poseen funciones únicas especializadas para la invasión de mucosas, las cuales normalmente no están presentes en las formas sanguíneas. Las formas metacíclicas no sanguíneas expresan moléculas de superficie específicas para la adhesión a receptores de superficie de las mucosas específicamente de mucina.<sup>54</sup>

Se ha evidenciado que las glicoproteínas gp82 y gp30 de la superficie del tripomastigote metacíclico pueden determinar la entrada del tripanosoma en las células epiteliales del estómago; pero, sólo la gp82 proporciona una eficiente

penetración celular a través de una interacción de los parásitos con la mucina gástrica. La gp82 y gp30 son moléculas de adhesión que se unen a las células epiteliales del mamífero, induciendo a la movilización del  $\text{Ca}^{2+}$  y la cual está presente en las formas metacíclicas no sanguíneas del *T cruzi* y determina la interacción de los tripomastigotes metacíclicos con la mucina gástrica y subsiguiente penetración de las células epiteliales subyacentes.<sup>55,56</sup> Esta infectividad es modulada por factores del huésped lo cual sugiere la posibilidad de que esté asociada a una mayor letalidad.<sup>57</sup> (Figura 9).



### Evidencias clínicas y experimentales de la penetración del *T cruzi*, vía placentaria.

La penetración del *T cruzi* se efectúa en las células placentarias posiblemente en las células de Hofbauer de las vellosidades coriónicas, en las

cuales se multiplica por división binaria bajo la forma de amastigotes. Algunos autores sugieren que la transmisión se realiza durante el parto. La coincidencia con Sida, agrava la condición de las pacientes.

Clínicamente, se ha demostrado la muerte fetal en casos agudos de ECh. La miocarditis congénita chagásica ampliamente estudiada en Brasil, fue reportada por primera vez en Venezuela, en Roblecito, Edo Guárico, por el Dr. Luis Dao en 1949, en una mujer embarazada.<sup>58</sup> En 1953, Bela de Gavaller, patólogo de la Maternidad Concepción Palacios de Caracas, describió el primer caso de ECh agudo congénito en dos gemelos autopsiados, fallecidos con la presunción diagnóstica de eritroblastosis fetal y quienes presentaban una pancarditis aguda.<sup>59</sup>

Recientemente (2010), nosotros publicamos un caso autopsiado de una mujer de 32 años quién había contraído la ECh por vía oral estando embarazada. El feto falleció y en la autopsia se encontraron amastigotes en los restos ovulares.<sup>14</sup>

Desde el punto de vista experimental se demostró que la penetración del *T cruzi* vía placentaria produce una placentitis chagásica. Se han evidenciado formas flageladas en el líquido amniótico en algunos sacos uterinos de los animales de experimentación y la presencia de amastigotes en la musculatura lisa del útero grávido de rata. Por otra parte, los autores demostraron graves alteraciones en los fetos afectados como: retardo en el crecimiento intrauterino, prematuridad, hepato-esplenomegalia, compromiso variable del sistema nervioso central, el miocardio, deformaciones, abortos y mortinatos.<sup>60</sup>

### **Características morfológicas de la miocarditis chagásica aguda. Aspectos generales.**

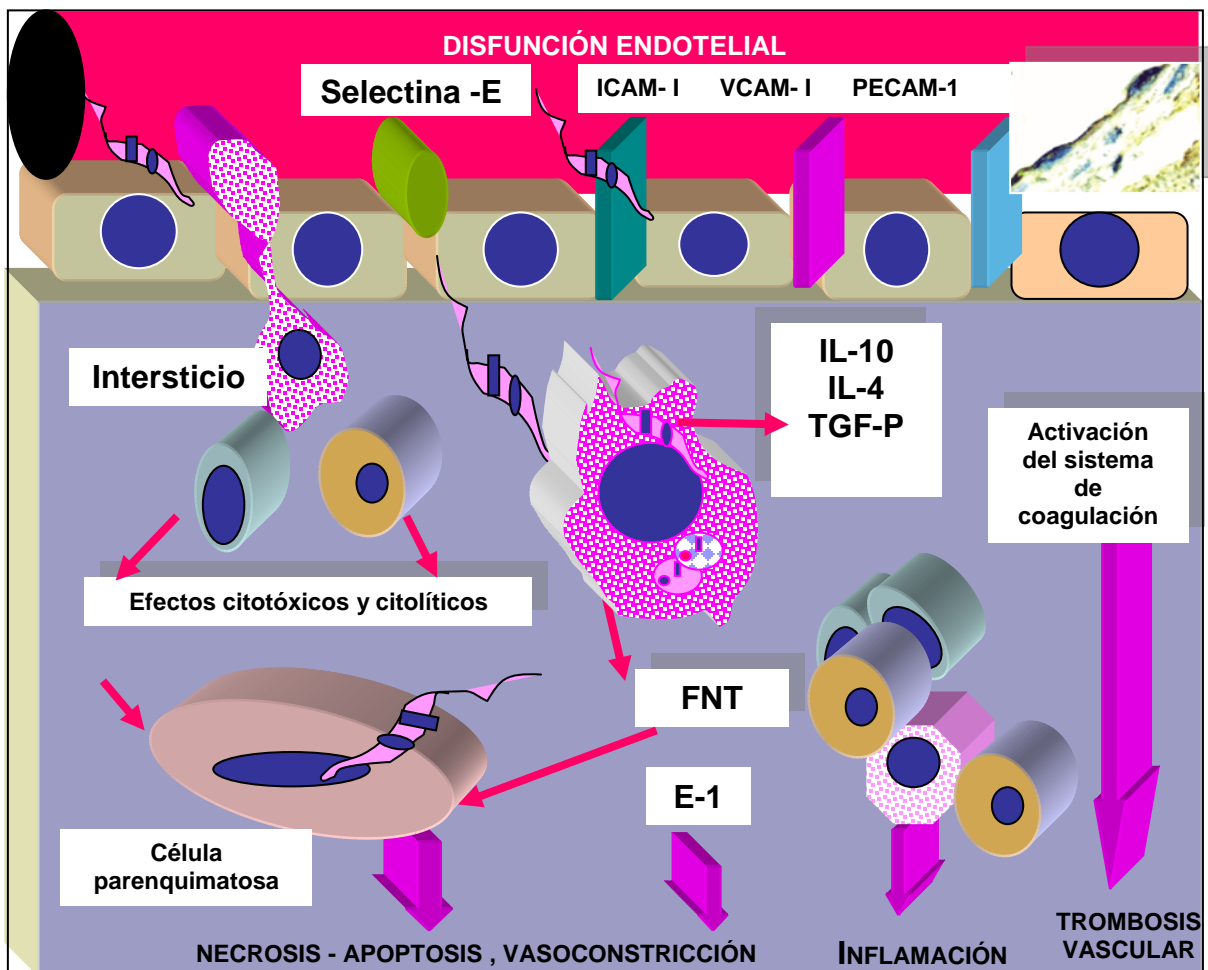
En zonas endémicas, la incidencia de la miocarditis aguda en los individuos infectados con *T cruzi*, es mas baja que la de la miocarditis crónica. La miocarditis aguda humana puede ser congénita y adquirida. Es importante puntualizar que ambos tipos de miocarditis aguda, presentan los mismos cambios macroscópicos e histopatológicos. La enfermedad de Chagas humana por transmisión oral es una forma más grave y aguda, la cual cursa generalmente como una invasión multitisular del parásito con especial



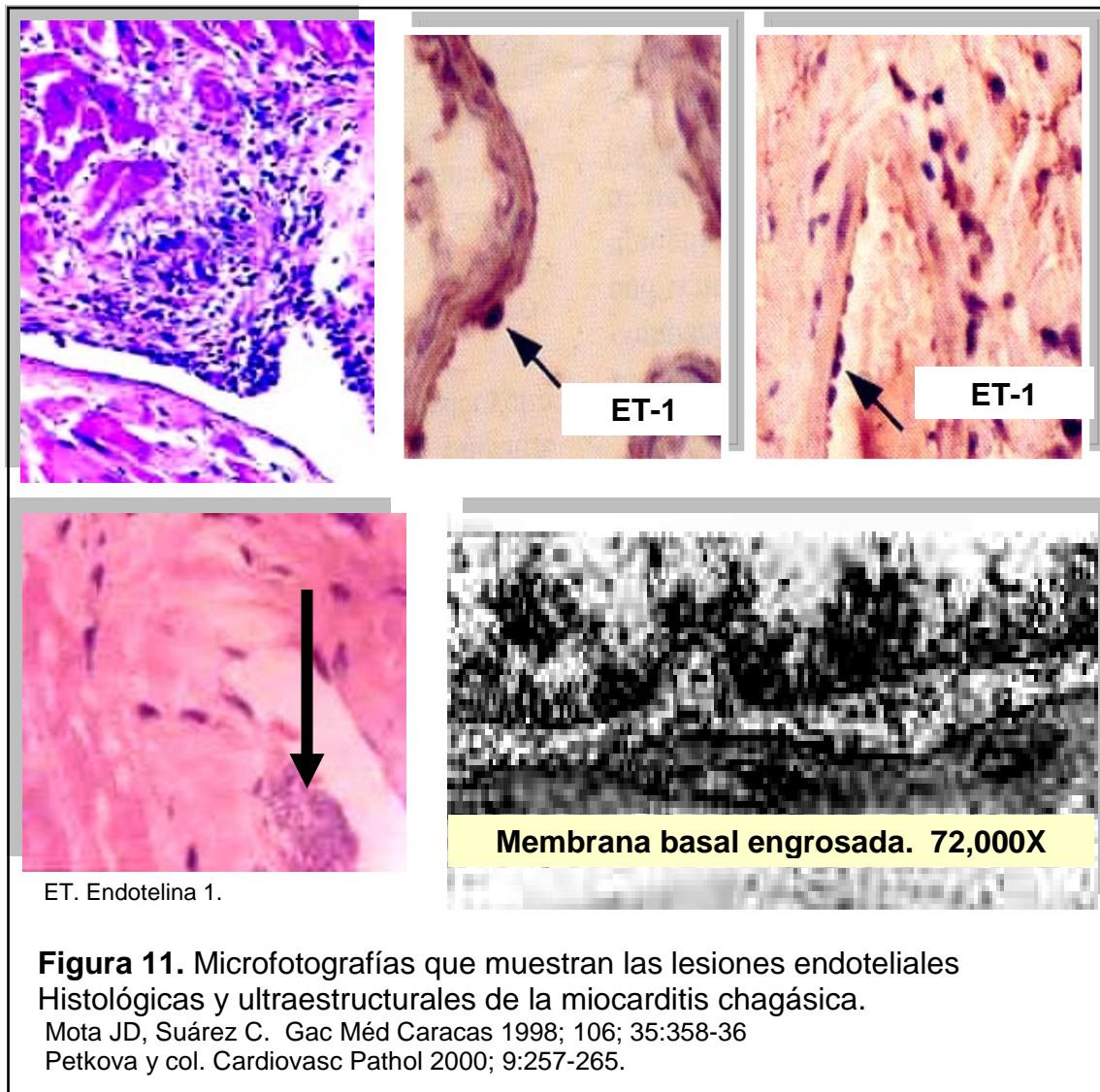
preferencia por el tejido miocárdico tanto de trabajo como de conducción, causando una pancarditis aguda. Influye en su gravedad y la mortalidad, las bajas defensas del individuo, desnutrición y presencia de otras enfermedades parasitarias, SIDA, embarazo y algunos tratamientos antineoplásicos.

### Vías que toma el *T cruzi* para llegar a los tejidos parenquimatosos: músculo cardíaco.

La penetración del *T cruzi* en el miocardio causa una disfunción endotelial en primer lugar, la cual dispara la cascada de eventos subcelulares que conducen a la inflamación del miocardio, pericardio y endocardio, es decir causando una pancarditis. (Figuras 10 y 11).



**Figura 10.** Diagrama que muestra algunos elementos celulares y moleculares que dispara la disfunción endotelial causada por la penetración del *T cruzi* en la circulación para alcanzar los parénquimas orgánicos. Diagrama C de Suárez modificado de Michael Gimbrone Jr. J Card Surg 1989 4:180-183



El inmunofenotipo de las células inflamatorias es amplio, predominando los linfocitos y las células presentadoras de antígenos del *T cruzi*. Además, el *T cruzi* coloniza otros elementos celulares cardíacos como las neuronas parasimpáticas intracardíacas y los propios cardiomiocitos tanto de trabajo como de conducción. Su acción más evidente es el bloqueo por la Tcsc (proteína del *T cruzi*) de las células presentadoras de antígenos. Además su inmunoglobulina es agonista de los receptores b-adrenérgicos, lo que dispara un desbalance eléctrico que conduce a una alteración de la contractibilidad y la conducción y generación de los potenciales de acción.

La historia natural de la enfermedad revela que afortunadamente, los casos agudos son menos frecuentes. Sin embargo en la etapa indeterminada o

silente de la fase crónica de la enfermedad, puede haber una reactivación de la infección, produciéndose una miocarditis aguda o una meningo-encefalitis aguda con cambios más histopatológicos que macroscópicos, las cuales se superponen a los hallazgos de la miocarditis aguda experimental tanto en perros como en ratas.

#### **Diagnostico de laboratorio:**

Son determinantes: el hallazgo del *T cruzi* en sangre circulante, el hemocultivo, el xenodiagnóstico (especificidad del 100.0%). El Test serológico positivo, puede darse un mes después. El líquido cefalorraquídeo es esencial para el diagnóstico neurológico.

#### **Aspecto macroscópico de la miocarditis Chagásica aguda.**

Se estima que solo un 10.0 % a 30.0% de las personas infectadas con *T cruzi*, desarrollan la miocarditis chagásica sintomática.

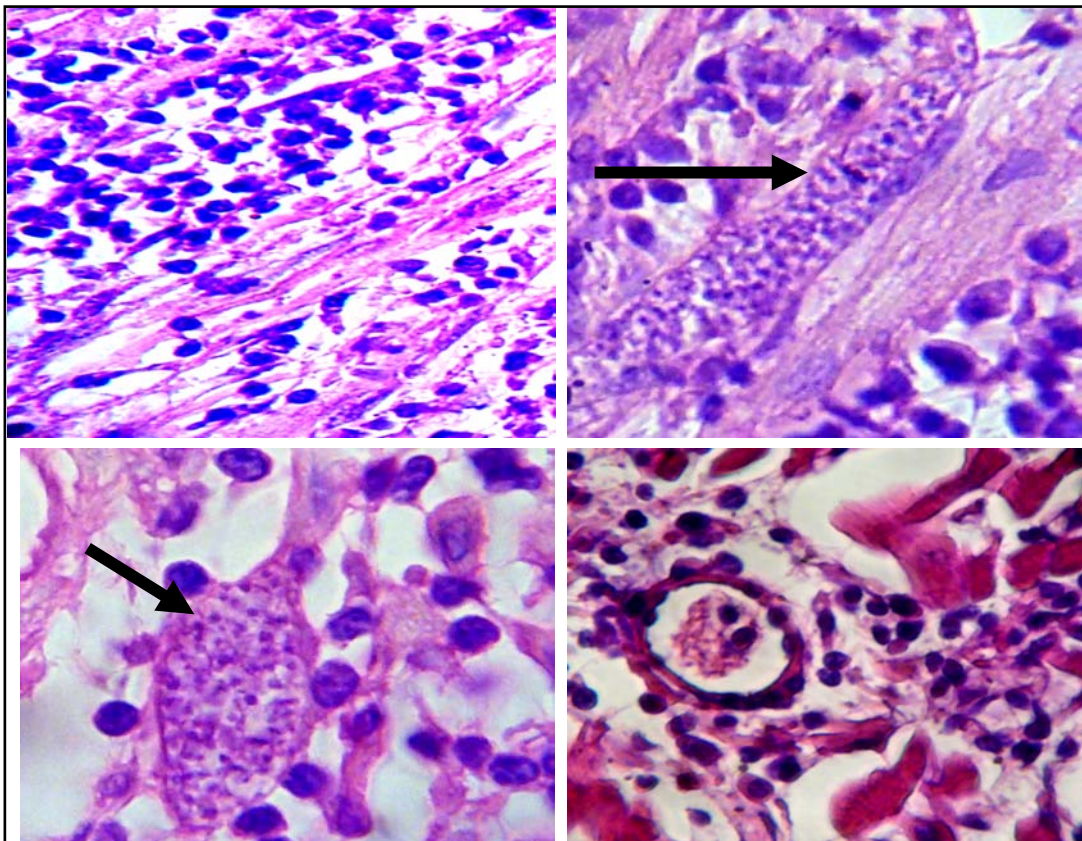
En esta primera fase, el corazón puede presentar un peso cardíaco normal o discretamente aumentado debido al edema severo del miocardio. Predomina la dilatación de las cavidades cardíacas con escasas o casi ausentes trombosis parietales. El miocardio está flácido y pálido. El endocardio usualmente es liso y brillante. No hemos observado rasgos diferenciales entre este tipo de miocarditis y los corazones con miocarditis aguda viral o inespecífica. La pericarditis con derrame es un hallazgo frecuente.

Trabajos experimentales, han reproducido en esta fase, zonas acinéticas con abombamiento sistólico apical o aneurisma apical del ventrículo izquierdo. En la miocarditis aguda chagásica con fracción de eyección normal, se han descrito áreas de disquinesias anterior o apical del ventrículo izquierdo. En el 21.0% de los casos, pueden aparecer tempranamente y este hallazgo puede ser útil para apoyar la presunción diagnóstica de la etiología Chagásica en pacientes con cardiopatías cuyo origen es desconocido.<sup>61, 62</sup> Igualmente, las correlaciones anatomoclínicas en animales de experimentación permitieron comprobar la existencia de lesiones apicales en las fases tempranas de la miocarditis chagásica.<sup>63</sup>

#### **Histopatología de la miocarditis chagásica aguda.**

Los cambios histopatológicos dependen en gran parte de la presencia del *T cruzi* en las células colonizadas, las cuales reciben el impacto de la acción del parásito así como las respuestas inmunológicas celulares. La nota

especial de la miocarditis aguda chagásica humana y experimental, la constituye la lesión inflamatoria aguda de todos los elementos cardíacos siendo en realidad una pancarditis aguda. La miocarditis aguda se caracteriza por: intenso edema intersticial e infiltrado inflamatorio de tipo linfomononuclear predominante con polimorfonucleares, especialmente eosinófilos, abundante parasitismo de las fibras del miocardio, necrosis focal celular y modificación de la microvasculatura intramural miocárdica con una remodelación colágena e hipertrofia celular moderada. Las evidencias de la presencia del *T cruzi* en los tejidos se puede observar con el microscopio de luz y una revisión minuciosa de las secciones histológicas en serie de miocardio, inclusive con coloraciones histológicas de rutina como la hematoxilina-eosina. Su diferenciación con el *Toxoplasma gondii* puede ser difícil para un observador sin experiencia. Actualmente existen métodos que detectan los antígenos del *T cruzi* mediante inmunohistoquímica, o mediante la PCR (R.de polimerasa en cadena) que evidencia fragmentos genómicos de Tc en zonas inflamadas del miocardio. Inclusive se puede detectar el ADN extranuclear con LSSP-PCR (R de la polimerasa en cadena para estudios del cinetoplasto y fragmento de ADN mediante el PCNA. (Figura 12).



**Figura 12** .Pancarditis aguda chagásica humana en escolar. Aproximadamente. 26 días de evolución. Microfotografías que ilustran la infiltración difusa severa por células linfomononucleares, edema intenso intersticial y atrofia de fibras miocárdicas, parasitismo miocárdico y vasculitis. Fotografías, Dra. C de Suárez.

El parasitismo miocárdico intenso aunque variable, cursa con infiltrado inflamatorio difuso, edema intersticial denso, acompañado de lesiones parenquimatosas severas secundarias a la presencia del parásito en todas las células donde el se reproduce por división binaria, formando los nidos de amastigotes, sin remodelado importante del colágeno de la matriz extracelular. Se han observado parásitos no solo en los cardiomiocitos sino también en las células endoteliales, en las neuronas de los ganglios parasimpáticos auriculares, en las células de Schwann y en los fibroblastos. Cuando el parasitismo es escaso en las células, se localizan generalmente en la parte no diferenciada del citoplasma celular, en las vecindades del núcleo. Los nidos parasitarios pueden alcanzar gran tamaño, ensanchando la fibra miocárdica que habitan, adoptando la forma de huso. En estas fibras, se observa una pérdida de bandas Z y un desplazamiento de las miofibrillas en la periferia del nido. (Figura 12).

En esta fase aguda se pueden distinguir dos tipos de nidos parasitarios: unos sin reacción inflamatoria, en el cual el *T cruzi* pernocta en la fibra sin cambios severos mientras prolifera en su interior sin dañar ni romper la membrana celular y los “nidos rotos” los cuales hacen presión sobre los elementos celulares, rompen la membrana celular causando una intensa reacción inflamatoria mixta, edema y vasodilatación capilar. Esta última estructura fue catalogada por Ferreira Berutti (1941), como la “*unidad patológica de la miocarditis chagásica*”.<sup>64</sup> Los focos de necrosis de fibra con intensa reacción inflamatoria difusa, fragmentos celulares y pirocitos son considerados como nidos rotos cuyos amastigotes están libres en el intersticio.<sup>65,66</sup> El infiltrado inflamatorio celular es difuso aunque en algunos campos es más denso, intercelular, acompañado de edema y acentuada dilatación capilar, intensa tumefacción de los endotelios especialmente de los precapilares y capilares. Las células inflamatorias son de tipo linfomononuclear con eosinófilos y eventualmente neutrófilos y macrófagos. El infiltrado se extiende al pericardio y endocardio, por esta razón se considera como una pancarditis chagásica. La presencia de algunos eosinófilos formando focos densos o placas acompañados de angiogenesis, son características de estados más avanzados o en evolución hacia la cronicidad en forma persistente. El tipo de

infiltrado en la miocarditis aguda chagásica fue caracterizado desde el punto de vista inmunohistoquímico. Han sido identificados linfocitos T y sub- tipos, CD4, CD8 con predominio de estos últimos. El proceso inflamatorio infiltra tanto el miocardio de trabajo como el de conducción, alrededor y en el haz de His.

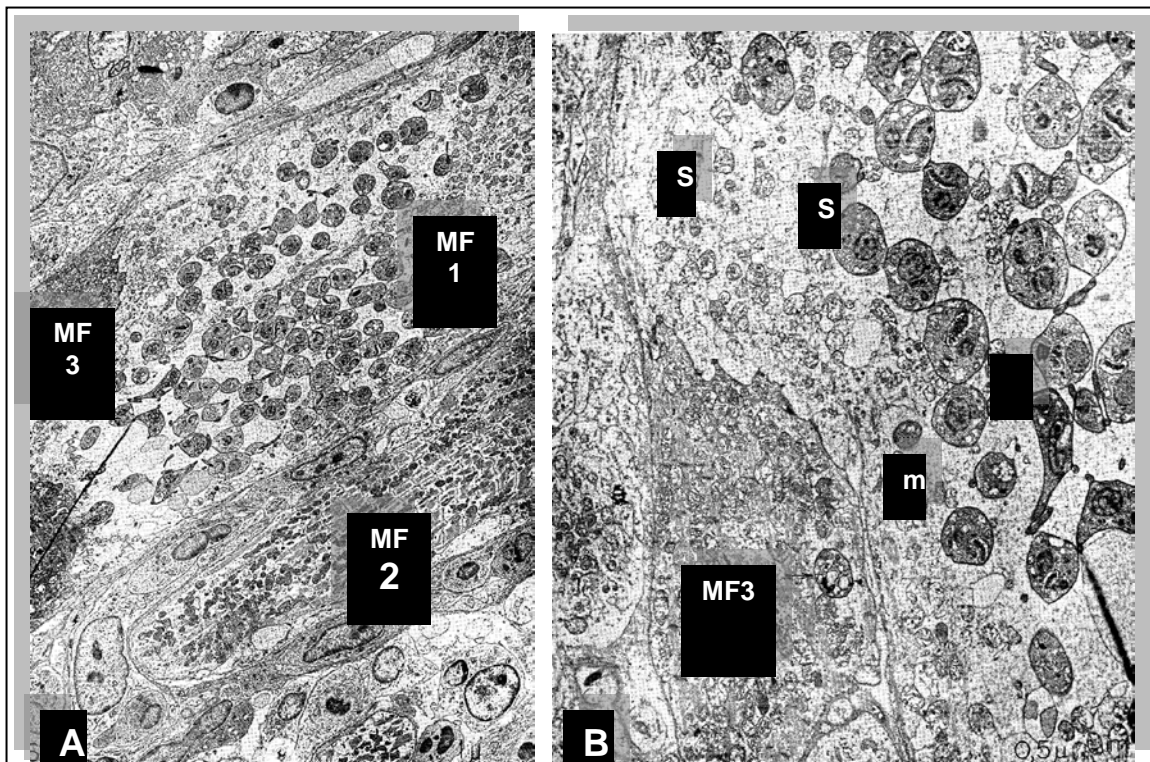
Las lesiones de los cardiomiocitos son difusas y se caracterizan por miofibrilolisis, atrofia severa por el edema intersticial, necrosis de coagulación segmentaria, fragmentación de fibras miocárdicas e hipertrofia ocasional. La lesión descrita por el investigador brasileño Magarinos Torres (1916) consiste en la presencia de degeneración miofibrillar con desaparición de las bandas Z en algunas fibras miocárdicas. En la atrofia celular, la fibra presenta una disminución de grosor, pérdida de estriación con citoplasma grumoso. En otras células, se evidencia degeneración hidrópica con edema intracelular. Algunos autores mencionan lesiones degenerativas miofibrilares más acentuadas en la zona subepicárdica acompañada de intensa reacción inflamatoria.<sup>67,68</sup>

### **Aspectos ultraestructurales de la fase aguda experimental. Estudios en autopsias:**

Son numerosos los trabajos realizados en este campo. Describiremos uno de los primeros realizados en el país y en el Brasil, ya que tienen un importante valor al descubrir las alteraciones a nivel subcelular provocadas por el parásito en el miocardio. En nuestra Institución (IAP-UCV), Domínguez fue el primer investigador que describió los aspectos ultra-estructurales de la miocarditis Chagásica experimental en su fase temprana.<sup>69</sup> Las alteraciones descritas por este patólogo, se caracterizaron por cambios del músculo de trabajo y de conducción a nivel del sistema tubular longitudinal el cual estaba dilatado, daños mitocondriales (hinchazón, crestolisis), alteraciones de los discos intercalares, ensanchamiento de los espacios intermiofibrilares y disminución o ausencia de las bandas Z. Demostró que la colonización parasitaria en la fibra contráctil del miocardio y en las células de Purkinje, es ubicuitaria. Encontró en algunas células, colonización de los parásitos en la región peri-nuclear, en las proximidades del disco intercalar o en la región intermedia entre el núcleo y el disco intercalar. Consideró que la alteración más temprana condicionada por la presencia del parásito, radica en una dilatación y distorsión del sistema tubular longitudinal y en las alteraciones de las

mitocondrias, las cuales están deformadas con matriz homogenizada, alteraciones de las crestas y presencia de numerosos gránulos densos. En las proximidades del disco intercalar, observó un espacio claro comprendido entre las dos membranas celulares el cual medía alrededor de 400 Å, es decir el doble del promedio normal. Las vesículas del retículo endoplasmático que se encontraban en íntima conexión con el disco, estaban marcadamente dilatadas.

Previamente, Sanabria (1965) había descrito la estructura fina de la forma adulta del parásito en el miocardio de ratón albino de la cepa CFI, en capilares, intersticio y miofibrillas. Demostró en un solo nido, las diferentes etapas evolutivas del parásito y comprobó que cuando existe proliferación parasitaria, casi todas las mitocondrias en contacto con los parásitos están alteradas con fragmentación y distorsión de sarcómeros.<sup>70</sup> (Figura 13).



**Figura 13.** Electromicrografía de baja magnificación que muestra un nido parasitario en el interior de una fibra miocárdica. A. Nido parasitario en el interior de una fibra miocárdica (MF1), otra fibra miocárdica (MF2) aparentemente no atacada y un infiltrado inflamatorio polimorfo puede verse en la parte inferior de la fotografía. Hacia la izquierda y separada del nido por un disco intercalar festoneado aparece otra fibra miocárdica (MF3) con un solo parásito en su interior. B. A mayor magnificación, se observan detalles de los diversos estadios del parásito que constituyen el nido. Sarcoplasma aclarado, mitocondrias alteradas (m) y segmentos adelgazados de sarcómeros (S). La fibra miocárdica vecina (MF3) colonizada por un solo parásito puede verse en mejor detalle. Fotografías. Cortesía Dr. Antonio Sanabria. Con permiso del autor. (50)

En Brasil, Andrade y col, hicieron hincapié en la aposición estrecha de células inflamatorias (linfocitos y macrófagos) con la membrana celular y con las células endoteliales de los capilares.. Observaron agregación plaquetaria con microtrombo de fibrina en algunos capilares, los cuales sugieren una microangiopatía en la fase aguda de la infección por el *T cruzi*. Consideraron mas frecuentes y sitios preferencial de daño, las uniones intercelulares con discos intercalares anchos y disociación de las uniones desmosomales. También describieron incremento de vacuolas lipídicas y lisosomas, formación de figuras mielínicas y pigmento de lipofuscina en las áreas perinucleares. El sarcolema era irregular con frecuentes vesículas subsarcoleómicas. Las membranas basales de los miocitos a menudo estaban dañadas o ausentes.<sup>71</sup>

#### **Aspectos histoquímicos de la enfermedad de Chagas aguda experimental.**

Armando Domínguez(1965), mediante métodos histoquímicos demostró que el parásito estaba dotado de un rico sistema enzimático de tipo digestivo (hidrolasas ácidas) el cual producía unas enzimas como la fosfatasa ácida, la L-aminopeptidasa y desoxirribonucleasa, las cuales al actuar sobre los cardiomiocitos, promovían la expresión de deshidrogenasas lácticas, succínicas y citocromoxidasa en los espacios intermiofibrilares. La actividad de la fosfatasa ácida era débil y estaba representada por escasos y pequeños gránulos en la región paranuclear celular. La actividad de la fosfatasa alcalina estaba localizada exclusivamente en la pared de los vasos y la de la leucina-aminopeptidasa fue escasa. La actividad de las deshidrogenasas estudiadas estaba ausente en los nidos parasitarios, en los granulomas y áreas de fibrosis. Concluyó que la alteración histoquímica más evidente a nivel de la fibra cardíaca en la fase aguda de la miocarditis chagásica experimental, estuvo representada por la depleción de la deshidrogenasa succínica, láctica y de la citocromo-oxidasa a nivel de los nidos parasitarios las cuales eran indicadoras de una alteración intensa de las mitocondrias. También, comprobó la ausencia completa de la actividad de la AT.Pasa activada por el calcio en la banda A miofibrillar lo que traduce una alteración intensa de las miofibrillas.<sup>72</sup>



**Características morfológicas de la miocarditis crónica chagásica.****Aspectos generales. Aspectos macroscópicos de la miocarditis crónica chagásica.**

Cerca del 70.0 a 90.0 % de los individuos infectados con *T cruzi*, desarrollan una miocardiopatía crónica cuando el parásito es menos evidente en el miocardio, lo que constituye uno de los hechos más intrigantes de la enfermedad. Los factores que determinan la progresión de la fase asintomática a la fase sintomática de la miocardiopatía chagásica, no están aún bien esclarecidos. Durante décadas, los investigadores se enfrentaron al hecho de que la miocarditis crónica con su carga sintomática, ocurre cuando menos parásitos hay en el miocardio o prácticamente están ausentes. Esto los condujo a plantearse en la participación de un fenómeno autoalérgico como lo supuso Rudolf Jaffé en nuestro país, en 1962, cuando ya estaba convencido que la miocarditis crónica era de etiología chagásica.<sup>73</sup> Sin embargo, a esta hipótesis se le opuso la de la respuesta inmune específica al *T cruzi*. Actualmente, la identificación del parásito mediante métodos inmunohistoquímicos y de biología molecular, más sensibles, constituye un avance muy importante por cuanto revela la presencia del *T cruzi* en los tejidos miocárdicos inflamados y se demuestra su relación con el procesos inflamatorio.<sup>74-76</sup> Una de las hipótesis que se sustenta, considera que el proceso destructivo progresivo en la miocarditis crónica puede resultar de una falla en la respuesta de las células Th1 reguladas por la IL-4. Esta falla dependerá de las características del huésped, de los cambios del sistema inmune por la edad y por la superposición de infecciones causada por microorganismos no relacionados con el *T cruzi*. En la miocarditis Chagásica ha sido demostrado la presencia de un subset de linfocitos T (Th1), los cuales promueven la activación de macrófagos mediante la secreción de citoquinas tal como el interferón-gama. Estas células son reguladas por las citoquinas producidas por Th2 (IL-4, 10 y 13). Durante la fase crónica de la enfermedad, el porcentaje de CD4 incrementa y suple el déficit de CD8. Estas células se encuentran en asociación directa con los cardiomiocitos que presentan cambios degenerativos.<sup>77</sup>

En la miocardiopatía chagásica en fase crónica, existen algunas características especialmente macroscópicas casi constantes, las cuales

constituyen la base morfológica más importante de las manifestaciones clínicas de esta cardiopatía.

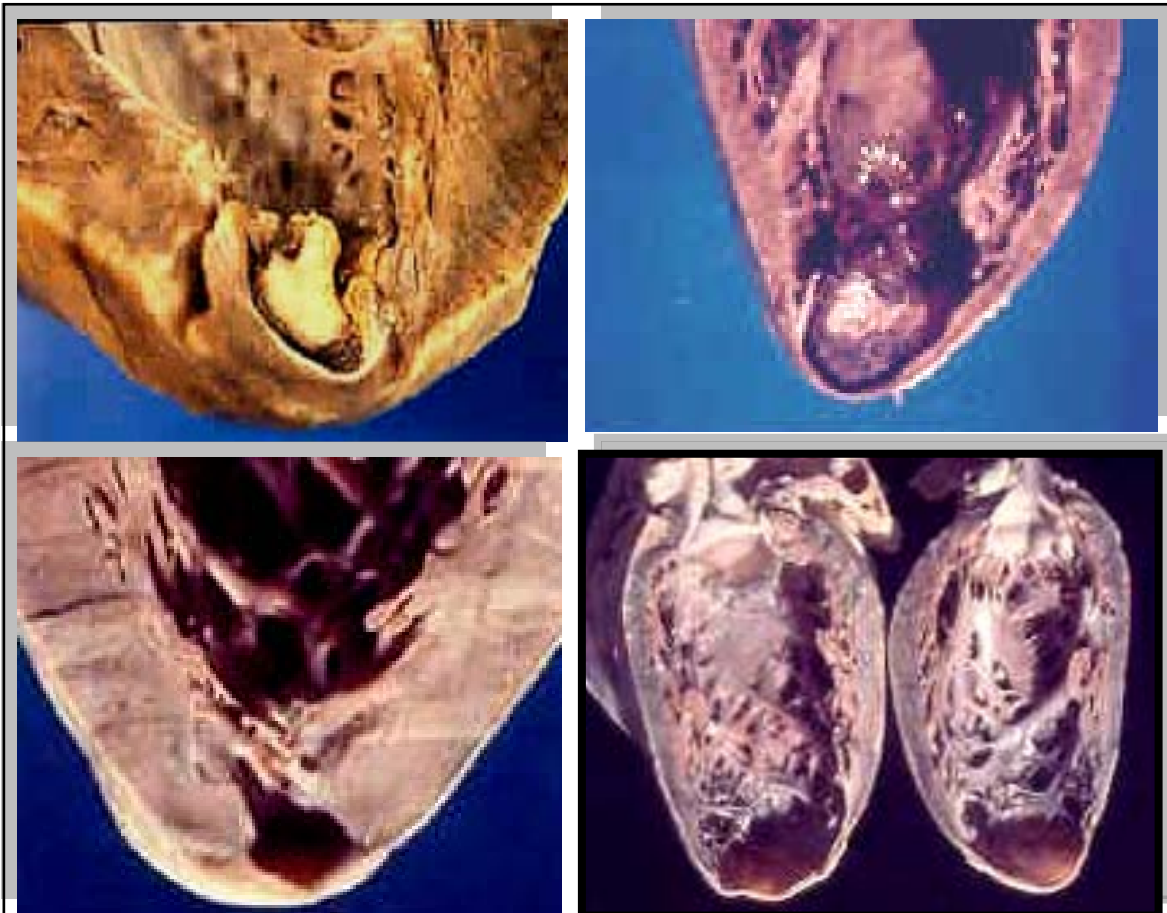
Los anatomopatólogos han descrito desde los primeros albores del descubrimiento de la enfermedad, algunas características macroscópicas, las cuales destacan en la miocarditis chagastica: **1.** Los adelgazamientos de las paredes ventriculares; **2.** La cardiomegalia; **3.** Los nodulillos epicárdicos. **4.** Las trombosis intracavitarias y el tromboembolismo periférico.

### **1. Los adelgazamientos de las paredes ventriculares**

La lesión macroscópica más importante y característica de la miocarditis chagastica crónica y eventualmente de la miocarditis aguda en evolución, son los adelgazamientos parietales ventriculares y más raramente, los auriculares. Su frecuencia es alta (entre 60.0 y 80.0%) aunque varía en las diversas series de autopsias estudiadas en el IAP y en una serie del Hospital Vargas.<sup>78-80</sup>

Los adelgazamientos parietales son áreas o zonas de las paredes libres ventriculares que presentan una reducción importante de su espesor. En el ventrículo izquierdo, el adelgazamiento parietal es abrupto en relación a las áreas vecinas. El espesor puede alcanzar entre 1 a 4 mm, y 2,5 a 4 cm de extensión, estando formado total o parcialmente por tejido fibroso y/o fibromuscular. En el ventrículo derecho se consideran como zonas adelgazadas, a las “porciones de la pared libre ventricular, translúcidas en una extensión mayor de un centímetro e histológicamente constituidas por tejido fibroso. Los adelgazamientos adquieren la forma aneurismática cuando hacen protrusión externa a manera de saco. A ese nivel, la pared está casi totalmente constituida por tejido fibroso con o sin infiltrado inflamatorio. En ningún caso en Venezuela ni en la extensa literatura internacional ha sido reportada la ruptura de este tipo de lesión. El adelgazamiento típico de la miocarditis crónica, descrito por los patólogos brasileños en las primeras autopsias, es semejante a los observados por los patólogos venezolanos en todos los trabajos realizados sobre la materia. La localización más frecuente y típica de los adelgazamientos es la zona apical del ventrículo izquierdo. Los adelgazamientos apicales típicos o propios de la miocarditis chagastica, son lesiones circunscritas en forma de “*nicho, saca bocado o de geoda*”<sup>\*</sup> cuando están trombosados (60.0%). Sus bordes están bien delimitados, aunque pueden ser más extensos, dilatarse y formar verdaderos aneurismas apicales y ser visualizados con ecocardiograma

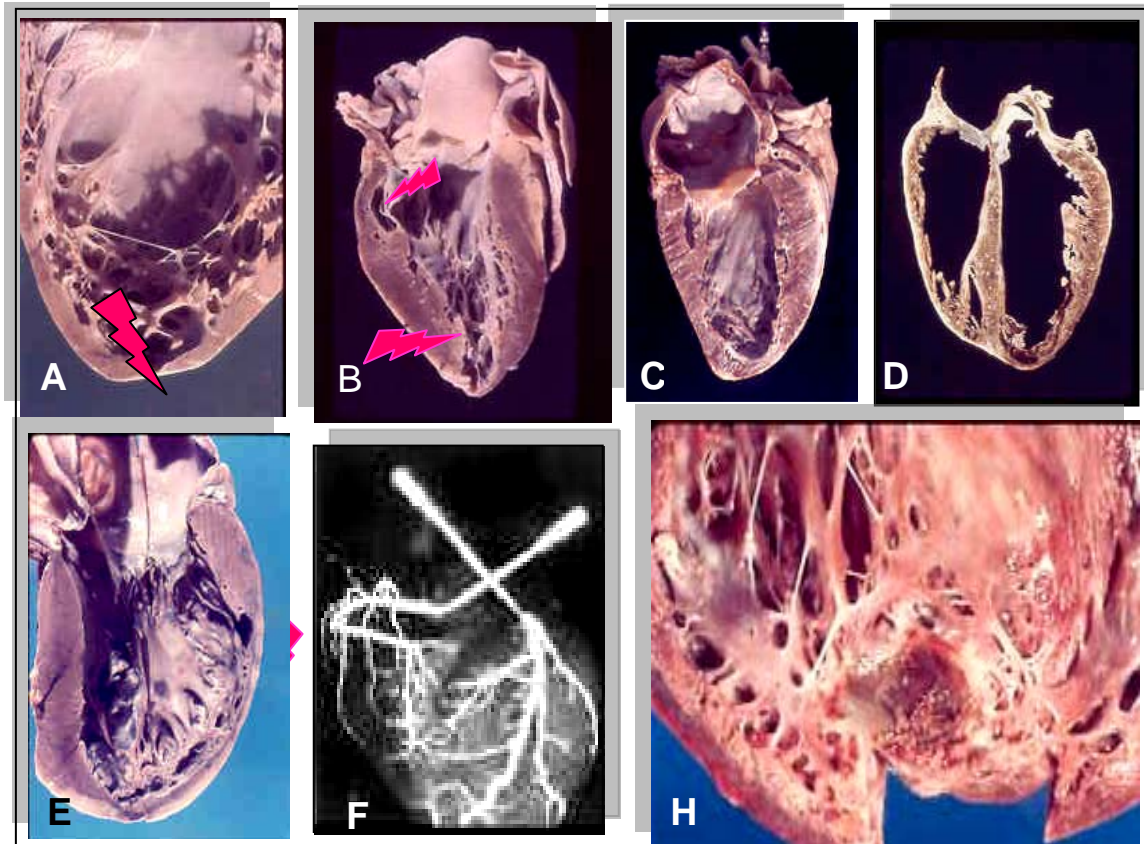
de 2 y 4 cámaras y cineangiocardiografía. Este último procedimiento es útil para establecer y evaluar el grado de compromiso miocárdico con la existencia de vaciamiento y contracción defectuosa en zona apexiana y parietal ventricular en un estadio aparentemente precoz. La correlación anatomopatológica demostró la formación de pliegues parietales sobre los músculos papilares, a nivel del borde superior de la lesión apical.<sup>81, 82</sup>. (Figura 14).



**Figura 14.** Corazones con miocarditis crónica chagastica con aneurismas del ventrículo izquierdo: Aneurismas apicales con y sin trombosidad.  
Fotografías: Dres. Suárez. IAP-UCV.

Un estudio comparativo sobre la morfología de los adelgazamientos apicales, entre corazones con miocarditis crónica en los cuales se había detectado el parásito con microscopio óptico y coloración de rutina y corazones con miocarditis crónica chagastica sin evidencia de nidos parasitarios, demostró que la mayoría de los adelgazamientos apicales no presentaban el aspecto típico en ninguno de los dos grupos. Estas formas de adelgazamientos fueron denominados como “atípicos” ya que eran excéntricos y mas extensos,

especialmente observados en los corazones con hipertrofia excéntrica <sup>23</sup>. (Figura 15).

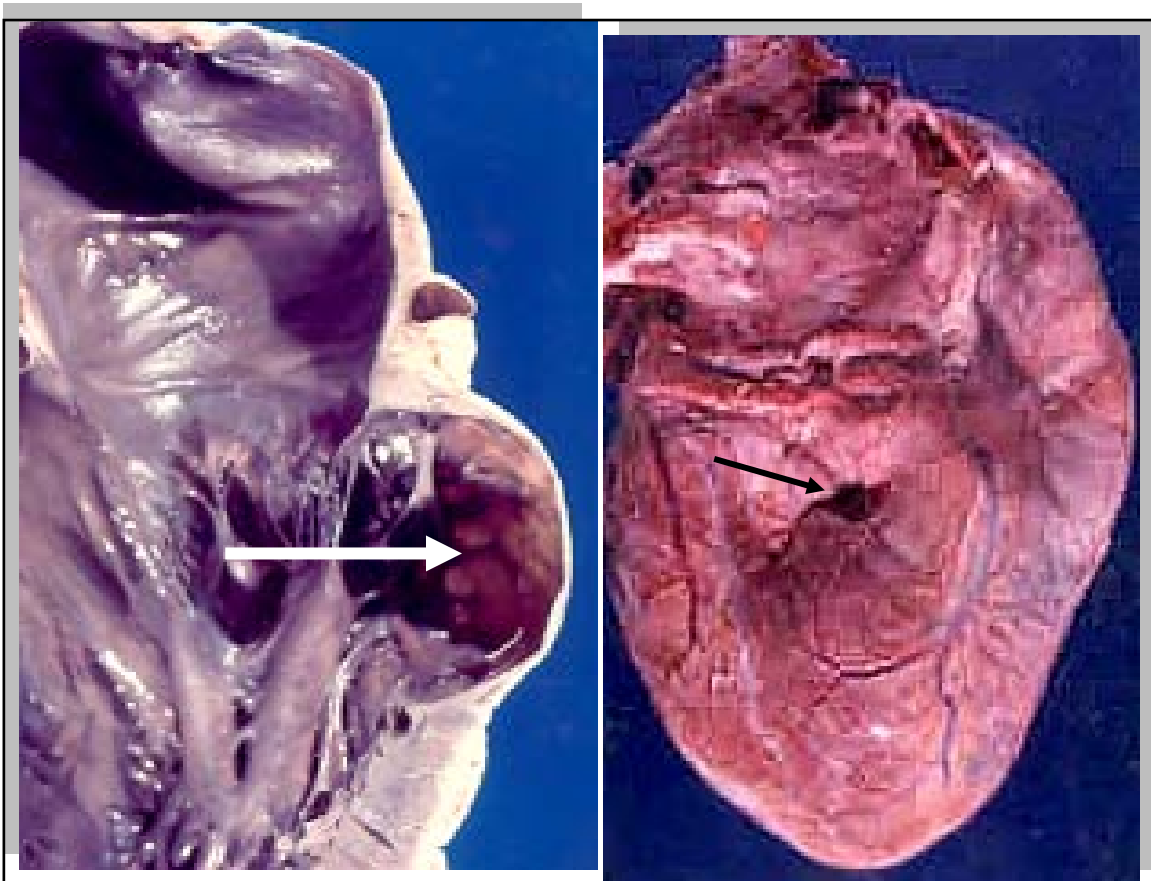


**Figura 15. Miocarditis crónica chagásica. Adelgazamientos del ventrículo izquierdo típicos y atípicos.** **A:** Adelgazamiento apical típico en saca bocado. **B:** Adelgazamientos típicos, apical y subvalvular en un mismo corazón. **C:** Adelgazamiento atípico en un corazón de tipo ambiguo. Obsérvense la extensa fibrosis apical. **D:** Adelgazamiento apical trombosado con fibrosis extensa a pared lateral. **E:** Adelgazamiento atípico con morfología de cicatriz de infarto de una cardiopatía isquémica. Es característica, la brusca transición con las paredes vecinas. Las coronarias\* no tenían lesiones estenosantes ni obstructivas (**F**). **H:** Región apical fibrosada y trombosada (lesión atípica).

geoda: piedra redondeada que contiene una pequeña cavidad interior usualmente revestida de cristales

En nuestro país, Suárez describió los adelgazamientos parietales bajo el nombre de “fibrosis segmentarias” en todas las paredes ventriculares de los corazones con miocarditis crónica chagásica, habiéndose previamente inyectado las cavidades cardíacas con formalina al 10.0%. Observó lesiones mas frecuentes en la región apical del ventrículo izquierdo y describió los adelgazamientos en la porción basal de la pared diafragmática del ventrículo izquierdo debajo de la valva posterobasal del aparato valvular mitral hasta la

base del pilar posterior.<sup>83</sup> (Figura 16). Hacemos la observación que fue Moia, en Argentina, el primer patólogo que hizo referencia a una zona adelgazada con aneurisma parietal situada en la porción basal de la pared posterior del ventrículo izquierdo.<sup>84</sup> Suárez observó, que la pared ventricular a ese nivel, estaba a menudo totalmente fibrosada y adelgazada; comprobó que estos adelgazamientos y los apicales, generalmente se presentan en un mismo corazón, lo que permite reconocer y diferenciar esta enfermedad de otros tipos de miocardiopatías, especialmente de la miocardiopatía dilatada y de la hipertensiva con los métodos radiológicos e imagenológicos que se disponen en la actualidad.<sup>85,86</sup> Los adelgazamientos del ventrículo derecho son más raros.



**Figura 16.** Corazones con miocarditis crónica chagastica con aneurismas del ventrículo izquierdo: Aneurismas subvalvulares mitrales en pared posterior del VI, después de haber inyectado el corazón con formalina al 10.0% y aspecto exterior del aneurisma subvalvular en un corazón en fresco.(flecha).

Fotografías: Cortesía del Dr. José Ángel Suárez.

## **2. La cardiomegalia en la miocarditis crónica chagásica.**

En las primeras descripciones anatomopatológicas de la miocarditis crónica, los patólogos insistieron en que el corazón siempre estaba aumentado de tamaño por causa de la dilatación de las cavidades y de una relativa hipertrofia ventricular. Con una minuciosa correlación anatomoclínica, se demostró que si bien, el aumento de peso cardíaco y de tamaño del corazón son hallazgos casi constantes en la fase crónica de la enfermedad, los corazones de los pacientes con miocarditis crónica chagásica, pueden presentar una variada gama de pesos cardíacos que van desde los valores normales (El peso cardíaco normal en población venezolana, en ambos géneros, masculino y femenino es de: 294,4 y 258,4 g respectivamente),<sup>87</sup> hasta corazones muy aumentados de peso con hipertrofia y dilatación de una, dos, tres o de todas las cavidades cardíacas especialmente del ventrículo izquierdo.<sup>88</sup>

### **Hipertrofia miocárdica en la miocarditis crónica chagásica**

La hipertrofia del músculo cardíaco se expresa con el aumento de peso cardíaco que varía entre 400-700 g. (hasta 800 g) en la fase crónica (Etapas II y III) y es la consecuencia del daño de la fibra y del intersticio miocárdico. El ventrículo derecho también se hipertrofia, pero casi siempre predomina la dilatación de la cavidad, aún en las fases más tempranas de la enfermedad. Este hallazgo aunque menos relevante que las lesiones del ventrículo izquierdo, se relaciona bien con algunas descripciones clínicas hechas por Soria y col quienes encontraron un grupo considerable de pacientes (n=44) que no presentaban en absoluto disnea de reposo y que con el esfuerzo era muy moderada, pero quienes se quejaban constantemente de trastornos hepato-gástricos, los cuales se acentuaban después de las comidas y del ejercicio. En estos pacientes se observaba una cardiomegalia variable con otras alteraciones al examen físico y electrocardiográfico, propias de la enfermedad crónica de Chagas.<sup>89</sup> La hipertrofia muscular ha sido considerada como un factor independiente de riesgo y de propensión al desarrollo de arritmias potencialmente letales. El incremento de la masa ventricular izquierda guarda relación con el proceso miopático esencial de la enfermedad, en donde intervienen una multiplicidad de alteraciones estructurales como la hipertrofia secundaria, el abundante infiltrado inflamatorio, las zonas de fibrosis, el

proceso de trombosis intracardiacas y los desbalances de la interacción de mecanismos hipóxicos y neurofisiológicos.<sup>90</sup> Ha sido demostrado que si bien el peso del corazón es proporcional al grado de infiltrado inflamatorio, no constituye un parámetro apropiado para evaluar la severidad de de la inflamación miocárdica.<sup>91</sup>

En las primeras etapas de la enfermedad, durante la fase crónica asintomática, antes denominada indeterminada, la diferencia de pesos cardiacos, con los de las etapas sintomáticas, es significativa ( $p=0,01$ ) ya que en la primera etapa, los corazones poseen, en su mayoría, un peso normal. Mediante el uso de la angiocardiografía cuantitativa y con el ecocardiograma modo M y bidimensional (método de Schiller), se logró el cálculo del volumen ventricular izquierdo y de la masa del ventrículo izquierdo con una excelente correlación con los datos de autopsia ( $R: 0,98$ ).<sup>92</sup>

En las fases terminales, el corazón toma una forma globosa, con un tracto de salida del ventrículo derecho muy prominente, a veces con un adelgazamiento apical del ventrículo izquierdo, solo visible al trasluz o a la palpación. Esta forma de cardiomegalia, con un músculo flácido has sido clásicamente descrita como corazón en forma de “bolsa de hielo” y corresponde generalmente a casos que cursan con insuficiencia cardíaca. La insuficiencia cardíaca es de aparición insidiosa y de carácter progresivo, desencadenada con frecuencia por disritmias o por estrés físico (esfuerzos laborales, trabajo de parto, infecciones, tromboembolismo etc.). A menudo se pueden poner de manifiesto grados subclínicos de disfunción ventricular izquierda ( $FE < 50.0\%$ ) mediante el empleo de los radionucleidos o del ecocardiograma.<sup>93</sup> Las correlaciones practicadas por un grupo de investigadores clínicos demostraron que la cardiomegalia (relación cardiorácica  $> 50.0\%$ ) era la expresión de graves cambios estructurales que aparecen durante el curso evolutivo de la afección en la fase crónica y junto con la insuficiencia cardíaca congestiva, constituyen dos indicadores fundamentales de riesgo asociada con la etapa sintomática III, a la vez que encierran un elemento de pronóstico ominoso.

De tal manera que se puede concluir que, la cardiomegalia en la miocarditis chagastica es expresión de un daño subcelular, celular y tisular progresivo y lento, el cual tarda en la mayoría de los casos, años en

manifestarse clínicamente y aún en los estudios anatomopatológicos tradicionales. La biopsia endomiocárdica (BEM) y las autopsias forenses de la población aparentemente normal permiten detectar los primeros cambios a nivel subcelular, celular y tisular de la enfermedad.

### **Hiperplasia miocárdica en la cardiopatía chagásica:**

Durante mucho tiempo y podríamos asegurar que aún en nuestros días (2012), se ha señalado dogmáticamente que las células musculares cardíacas (cardiomiocitos) eran células maduras de diferenciación terminal como las neuronas y que su multiplicación cesaba antes o poco tiempo después del nacimiento. Estas aseveraciones han sido desmentidas hace más de 7 décadas por las demostraciones experimentales de la proliferación celular miocárdica.

Takeshi Shozawa y Kolchi Kawamura citan 31 trabajos de las décadas del 50, especialmente alemanes, en los cuales se demostró con microscopía de luz y microscopía electrónica, la hiperplasia del cardiomiocito en varios tipos de miocardio, en animales de experimentación principalmente en las áreas de regeneración de los infartos y en el miocardio humano especialmente en niños. (MacMahon HE ,1937). En la era de la histología pura pre-inmunohistoquímica, se le concedió una especial importancia a la doble nucleación como indicador de hiperplasia del miocito. Los investigadores Señalaron que la binucleación celular ocurría después de una división activa amitótica nuclear.<sup>94</sup>

Según Nadal-Ginard, estudios recientes demuestran la generación de nuevos miocitos durante toda la vida, tanto en tejido humano como animal bajo estímulos tanto fisiológicos como patológicos .Considera que en general las hiperplasias, se deben a factores tisulares y moleculares que estimulan la división celular en tejidos que conservan su capacidad de proliferar después de la embriogénesis (H primarias.) o a factores patológicos que actúan sobre las células miocárdicas, disparando su capacidad de división binaria(H secundaria). Durante el desarrollo cardíaco, desde el nacimiento hasta la edad adulta, existe un balance entre los estímulos que inducen el crecimiento hipertrófico y la hiperplasia de los miocitos (crecimiento en volumen de las células y aumento del número de éstas) y la apoptosis celular. La medida directa de formación de células nuevas en corazones adultos demuestra que existen índices altos de renovación celular que compensan la muerte celular. El



corazón está en una continua renovación con células miocárdicas nuevas que reemplazan las antiguas. La identificación en el corazón adulto de una subpoblación de células quiescentes, que tienen muchas características de células madre, son capaces de entrar rápidamente en el ciclo celular y generar nuevos cardiocitos, es otra evidencia de que el corazón continuamente produce nuevos cardiomiocitos para reemplazar aquellos que desaparecen por la necrosis o apoptosis.<sup>95</sup>

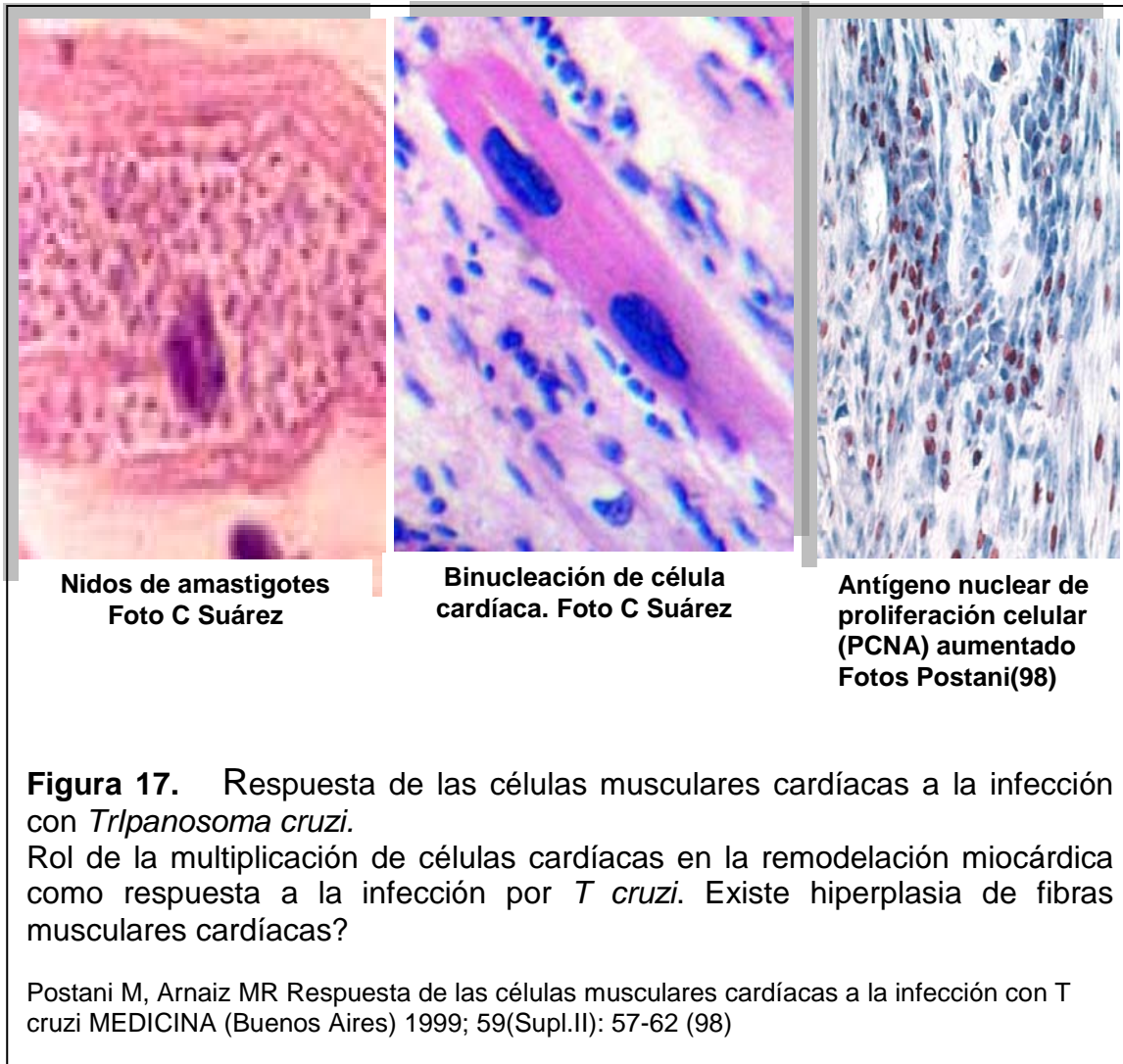
Las células madre se han definido como células clonogénicas, las cuales tienen la capacidad de autorrenovarse ilimitadamente por división simétrica, capacidad de diferenciarse por división asimétrica y posibilidad de reconstruir un tejido por repoblación funcional. La terapia con células madre, como estrategia para regenerar tejidos dañados, es una de las áreas más prometedoras del tratamiento de las enfermedades con escasas expectativas de curación y la insuficiencia cardíaca es una de las enfermedades que más se pueden beneficiar de este tratamiento. Las células madre cardíacas presentes en el corazón, podrían generar nuevos vasos sanguíneos y músculo cardíaco. Se ha demostrado que estas células tenían telómeros largos en el final de los cromosomas, lo que indica que las células madre cardíacas expandidas retenían una reserva de crecimiento significativa, aunque menor en los pacientes ancianos o diabéticos y que la activación de un marcador de superficie celular, el receptor del factor de crecimiento de la insulina 1 (IGF-1R), reconoce las células madre más propensas a proliferar y producir nuevo tejido cardíaco. De tal manera que existe una célula madre cardíaca residente, la cual ya está programada para formar músculo cardíaco. El desarrollo de técnicas de mayor complejidad para la identificación de la actividad mitótica, ha permitido demostrar la capacidad proliferativa de los miocitos cardíacos, principalmente en cardiopatías isquémicas e idiopática dilatada.<sup>96, 97</sup>

En la miocarditis chagásica a nivel celular es donde ocurren los cambios morfológicos característicos: la necrosis celular, la inflamación y el incremento de la masa muscular cardíaca por hipertrofia celular. Según Postani y colaboradores, las células musculares del corazón no solo se hipertrofian sino que se multiplican (hiperplasia celular) como respuesta a la infección del *T cruzi*. Se demostró la presencia del antígeno de proliferación nuclear (PCNA) en los cardiomiocitos de ratas Wistar infectadas con *T cruzi*, de tal manera que

la célula miocárdica participa activamente en la respuesta tisular frente a este agente patológico. Estos hechos demuestran claramente la participación del mecanismo de hiperplasia celular miocárdica en la remodelación cardíaca, durante la miocarditis chagásica experimental. Por otra parte los cultivos primarios de miocitos cardíacos de ratas neonatas estimulados con IL.1b, TNF.a e IFN.g demostraron una participación activa al producir mayor cantidad de óxido nítrico.<sup>98</sup>

Son numerosos los ensayos clínicos se han realizado con células mononucleares de médula ósea, una población heterogénea de células hematopoyéticas y mesenquimáticas que contiene < 0,1% de células madre, aunque varios ensayos estudian las células AC133 de sangre periférica movilizadas con G-CSF. Los resultados muestran, tanto en infartos agudos tratados por vía intracoronaria como en infartos antiguos tratados por un abordaje quirúrgico, una mejoría de la función sistólica ventricular izquierda y de la perfusión sin modificación de los diámetros y los volúmenes telediastólicos, lo cual sugiere que el tratamiento no mejora la remodelación ventricular. Aunque estudios iniciales mostraban transdiferenciación de células de médula ósea, estos miocitos no se parecían a los cardiomiocitos normales.

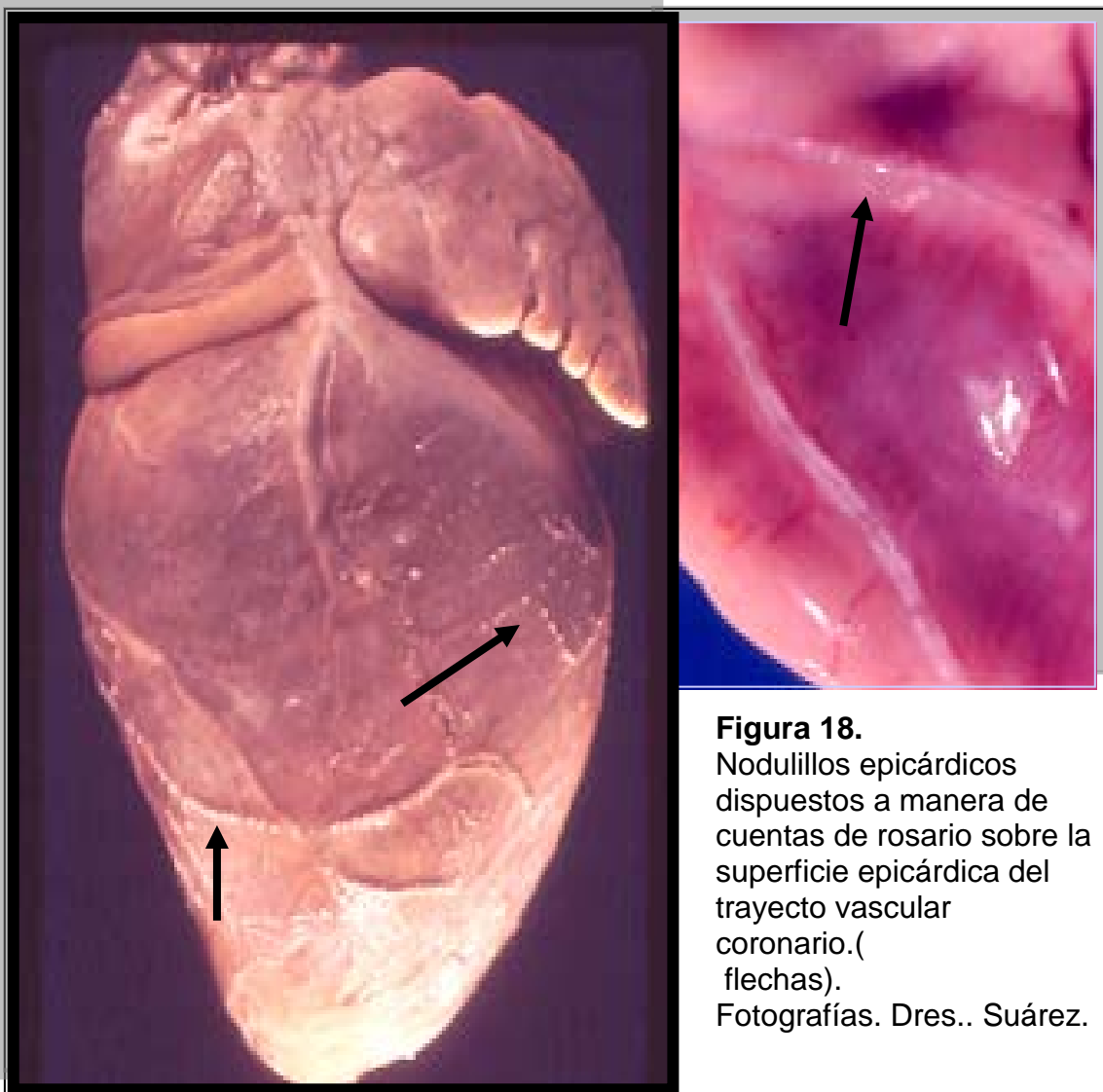
La mayoría de los investigadores han sido incapaces de demostrar la transdiferenciación de estas células en miocitos cardíacos. La citocina mejor estudiada y empleada para la movilización de células progenitoras, G-CSF, puede tener un efecto protector miocárdico. Los cardiomiocitos expresan el receptor G-CSF y el tratamiento con G-CSF protege la muerte celular *in vitro* tanto de los cardiomiocitos como de las células endoteliales. Este mecanismo probablemente no está relacionado con la regeneración miocárdica, sino con la inflamación y/o un efecto crioprotector directo. Estas dificultades explican porque la aplicación clínica se haya reducido a casos aislados del *Arizona Heart Institute* y a la experiencia argentino- brasileña, principalmente en la enfermedad de Chagas.<sup>99-102.</sup> (Figura 17).



### 3. Los nodulillos epicárdicos.

Los nodulillos epicárdicos son pequeños nódulos fibróticos de color blanquecino, los cuales miden entre 2 y 4 mm, localizados y dispuestos como las “cuentas del rosario”, sobre la superficie epicárdica de las coronarias mayores. Histológicamente, corresponden a nódulos formados por fibrosis e infiltrado inflamatorio linfomononuclear. Su etiopatogenia es desconocida, pero generalmente se relacionan con focos de pericarditis crónica o de secuela de pericarditis, la cual se observa casi constantemente en el epicardio de la cara anterior del ventrículo derecho (mancha lechosa) y de las aurículas. Recordemos que en la miocarditis aguda, el derrame pericárdico inflamatorio es frecuente o casi constante. También se han invocado mecanismos físicos de

tensión sobre el pericardio visceral que recubre las coronarias epicárdicas más prominentes. (Figura 18).



**Figura 18.**

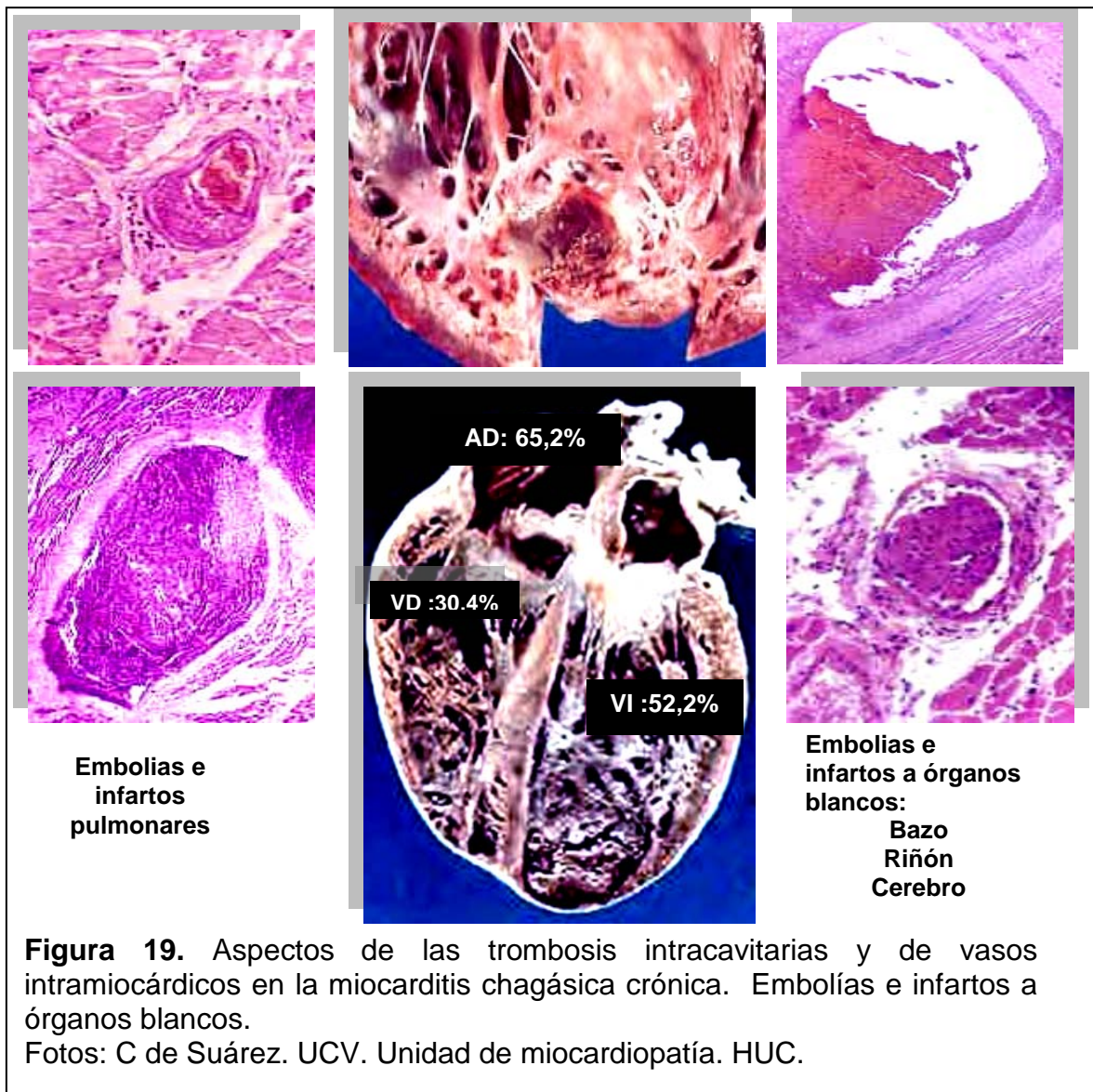
Nodulillos epicárdicos dispuestos a manera de cuentas de rosario sobre la superficie epicárdica del trayecto vascular coronario.( flechas).

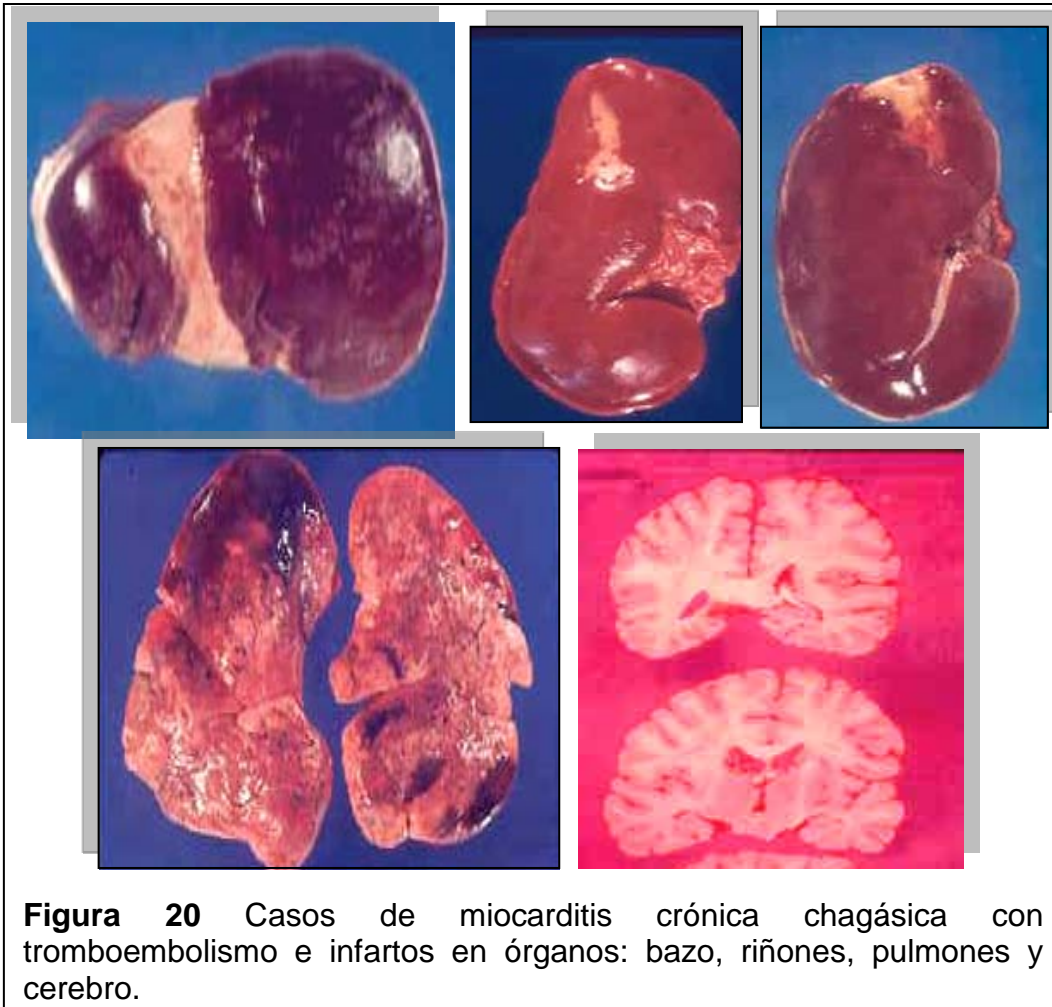
Fotografías. Dres.. Suárez.

#### **4. Trombosis intracavitarias y el tromboembolismo periférico.**

Hemos comprobado en una serie de autopsias con cardiopatía chagastica, que las zonas de adelgazamiento parietal, especialmente, los apicales del ventrículo izquierdo (52.1%), son el asiento frecuente de trombos de un gran potencial trombogénico y por ende, son sustratos de embolias en la fase crónica de la enfermedad. También, son asiento preferencial de trombosis: el endocardio de la aurícula derecha, a nivel de la orejuela (65,3%), el ventrículo derecho (17.3%), la aurícula izquierda (30.4%) y es casi constante la presencia de trombosis de los vasos de Tebesio, los cuales se abren

directamente a las cavidades ventriculares. No siempre hay relación entre las trombosis intracavitarias y las embolias pulmonares o sistémicas. En una serie de 171 casos de miocarditis crónica chagásica estudiados en nuestro centro, se encontraron: 79 casos con infartos renales (46,1%); infartos pulmonares (n=52 -30,0 %) y esplénicos (n=20-12, 0%). Con menor frecuencia, embolias en cerebro y arterias periféricas, el 4.0% y 5,2%, respectivamente.- (Figuras 19 y 20).





**Figura 20** Casos de miocarditis crónica chagásica con tromboembolismo e infartos en órganos: bazo, riñones, pulmones y cerebro.

### Relación clínico-patológica en cada etapa de la fase crónica de la miocarditis crónica chagásica.

Los cardiólogos y patólogos que integraban el grupo de la unidad de Miocardiopatía coordinada por el Dr. JJ Puigbó, relacionaron las características macro-microscópicas de los corazones en cada una de las etapas clínicas establecidas. Las características del corazón de autopsias con miocarditis crónica chagásica dependen de la fase clínica de la enfermedad. Tres etapas clínicas se han definido en la fase crónica: **I, II y III**. Estas etapas se superponen a los descritos por el Grupo de los Andes venezolanos (Grupos **IA, IB, II y III**) basados en evidencias morfológicas subcelulares, celulares y tisulares mediante biopsias endomiocárdicas practicadas en diferentes estadios de evolución de la enfermedad cardíaca chagásica.<sup>103,104</sup> (Figura 21).

### Etapas clínico-patológicas de la fase crónica de la miocarditis Chagásica

#### Etapa clínica I



#### Etapa clínica II



#### Etapa clínica III



**Figura 21.** Fotografías del aspecto macroscópico del corazón con miocarditis crónica chagásica en las tres etapas clínicas de la enfermedad.

Puigbó JJ, Giordano H, Suárez C, Acquatella H., Combellas I. Aspectos Clínicos en la enfermedad de Chagas en: Actualizaciones en la enfermedad de Chagas. Simposium Satélite Córdoba. ED. RMadoery, Camera 1992.

Puigbo JJ, Suárez C, Giordano H. Correlaciones anatomoclínicas en la enfermedad de Chagas. Rev Fac Med 2000; 23: Suplemento 1 (S47-S53).

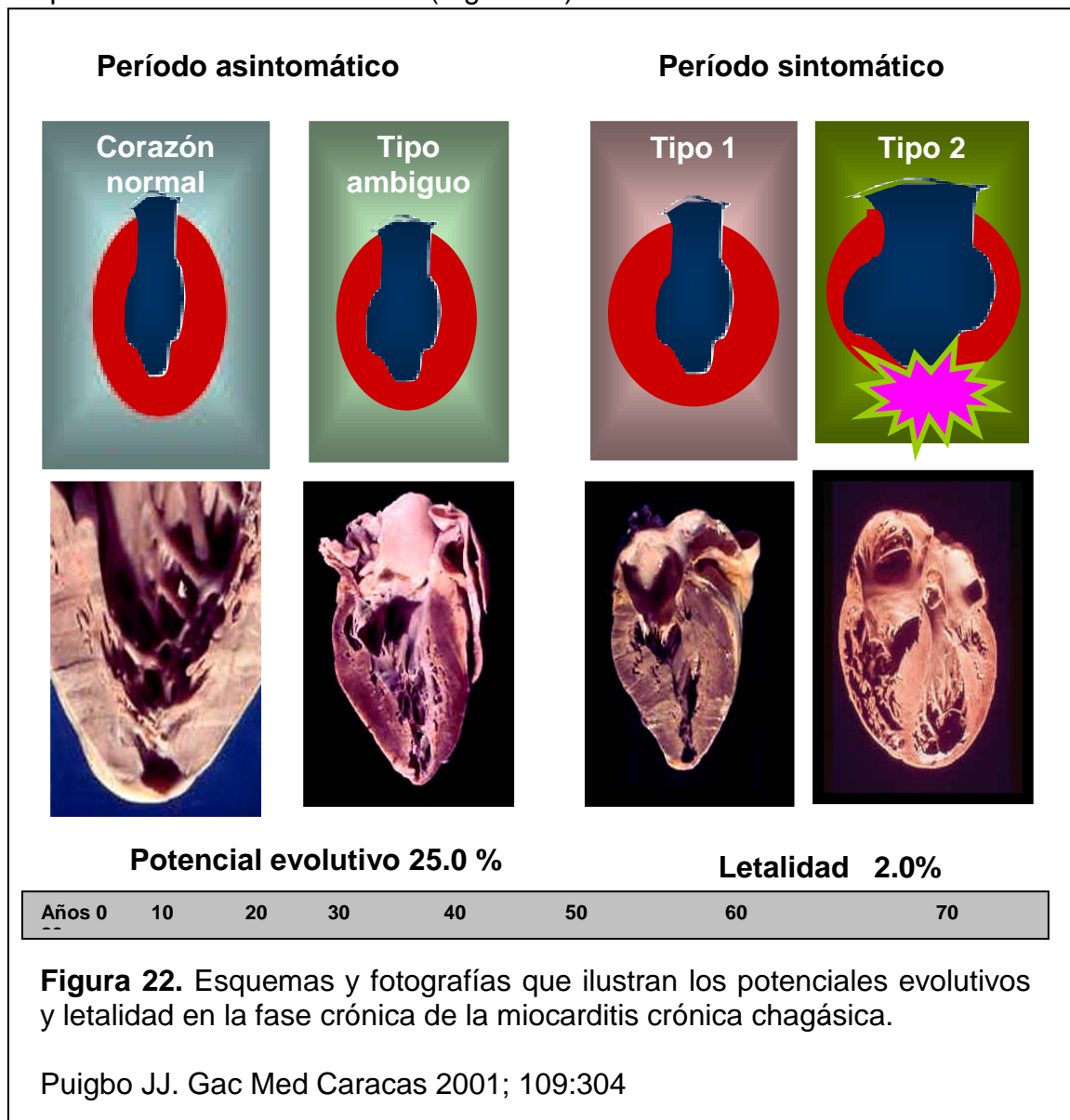
### **Etapa clínica I. Fase o etapa indeterminada, asintomática o silente de la enfermedad. Características generales**

Esta fase puede durar varias décadas, su comienzo y término es indefinido. Ha sido denominada como fase o etapa asintomática o silente de la enfermedad. La desaparición de las manifestaciones clínicas de la miocarditis aguda con reducción o aparente desaparición de la parasitemia, es el comienzo de la fase asintomática o indeterminada. En general se trata de pacientes sin historia de enfermedad aguda pero con serología positiva y sin evidencia objetiva de enfermedad cardíaca

Las bases del diagnóstico son: serología positiva y baja parasitemia. (>20%), No hay evidencias clínicas de enfermedad cardíaca con los usuales métodos de diagnóstico. El tamaño del corazón es normal con una función

sistólica normal. Pueden existir anomalías tempranas únicas o múltiples de la función diastólica, autonómica y de la contractilidad segmentaria.

Estudios experimentales en perros demostraron que las lesiones del miocardio no cursaban con lesiones de la microvasculatura ni estrecho contacto de las células inflamatorias con el endotelio como ocurre en la fase aguda de la miocarditis experimental. Se consideró que la evolución de la miocarditis chagásica en los animales supervivientes era debida a un equilibrio inmunológico entre el huésped y el miocardio más que un proceso de daño progresivo.<sup>105</sup> Puigbó y colaboradores evaluaron el potencial evolutivo y la letalidad de la miocarditis crónica chagásica en un grupo importante de casos basados en las características clínico-patológicas de los corazones en cada etapa o fase de la enfermedad. (Figura 22).





Las autopsias de pacientes que fallecen accidentalmente demuestran lesiones inflamatorias y fibrosis con corazón macroscópicamente normal en peso, tamaño y forma y las BEM presentan lesiones subcelulares, celulares degenerativas y alteraciones histoquímicas progresivas.

### **Aspecto macroscópico de la miocarditis crónica chagásica humana de la Etapa clínica I.**

Por ser una fase clínicamente silente, solo el estudio de corazones forenses ha revelado los rasgos morfológicos de los corazones de pacientes portadores de miocarditis crónica chagásica (histológicamente comprobados). El peso cardiaco suele ser normal o dentro de sus límites. Puede existir un adelgazamiento apical limpio sin trombosis en ventrículo izquierdo, que le confiere a la pieza cardíaca una nota especial, la que permite al patólogo hacer el diagnóstico macroscópico de miocarditis crónica chagásica, aún con peso cardiaco normal.

Al igual que autores brasileños, estudiamos una serie de casos con miocarditis crónica chagásica fallecidos en forma violenta (autopsias forenses) y pudimos comprobar que el rasgo morfológico más importante en esta etapa, es la escasa variedad de lesiones macroscópicas.<sup>106,107</sup> En este estudio, se demostró que el 48% de los corazones con miocarditis crónica chagásica de individuos fallecidos de muerte violenta presentaba un aspecto macroscópico normal con pesos cardiacos normales (promedio de  $287,9 \pm 9,8$  g) excepto los corazones de individuos mayores de 39 años quienes presentaron pesos cardiacos discretamente aumentados ( $298,6 \pm 16,2$ ). Otras características macroscópicas fueron: la dilatación del ventrículo derecho (6/23); cicatrices miocárdicas (7/23); aterosclerosis coronaria (8/23) y adelgazamientos apicales en ventrículo izquierdo (5/23). En ningún corazón se evidenció dilatación de las cavidades auriculares, hipertrofia o remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo, dilatación del mismo ni trombosis parietal.<sup>88</sup> La etapa inicial de la lesión apical está probablemente vinculada con la disineria apical segmentaria la cual puede ser evidenciada en los ventriculogramas, radionucleidos y ecocardiogramas.<sup>108</sup>

Estos hallazgos son importantes cuando se piensa en que el 10% de la población puede ser portadora de la enfermedad, lo que representa una

evidente alerta para los bancos de sangre y para los individuos que por cualquier causa de inmunodepresión como el SIDA, pueden presentar una reactivación de la enfermedad a nivel cerebral o miocárdico.

### **Etapa clínica II .Características generales:**

En esta etapa, las manifestaciones clínicas son más evidentes y progresivas, aunque esta fase puede ser también asintomática o cursar con la triada: bloqueo avanzado de rama derecha, hemibloqueo anterior izquierdo, arritmia extrasistólica, arritmias supraventriculares y ventriculares con un corazón de tamaño normal, función sistólica normal, o con evidencia objetiva de cardiopatía, ECG anormal, disfunción de la contractilidad segmentaria y síntomas de disfunción autonómica. Las anormalidades múltiples de la función diastólica que pueden observarse en esta fase son: prolongación del tiempo de relajación isovolumétrica (mseg) con incremento progresivo, prolongación del intervalo A 2.0. (m seg.), retraso de la apertura de la válvula mitral, retraso del cierre valvular aórtico, disminución de la tasa pico de aumento de dimensión (cm./seg.), cambio porcentual de las dimensiones del ventrículo izquierdo y duración del adelgazamiento parietal precoz( mseg).<sup>109</sup>

### **Aspecto macroscópico de la miocarditis crónica chagásica humana de la Etapa clínica II.**

En esta etapa, el corazón presenta las mismas características que en la etapa I, aunque pueden observarse corazones con un peso discretamente aumentado y dilatación del ventrículo derecho. Más raramente, el corazón puede presentar remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo, nodulillos epicárdicos y adelgazamiento apical del ventrículo izquierdo.

### **Etapa clínica III .Características generales.**

En la última etapa, generalmente existe: cardiomegalia, trombosis intracardíaca y tromboembolismo periférico. Clínicamente suele haber insuficiencia cardíaca congestiva, crisis sincopales y alteraciones electrocardiográficas como: bloqueos de rama del Has de His o completo, arritmias ventriculares complejas, ondas Q anormales y función sistólica deprimida. La fracción de eyección suele ser del 30 % o menos .Se evidencian anormalidades graves de la contractilidad parietal cardíaca y disfunción autonómica y diastólica.<sup>110</sup>

**Aspecto macroscópico de la miocarditis crónica chagásica de la etapa clínica III.**

Los corazones en esta etapa, alcanzan un mayor peso y tamaño y el aspecto macroscópico del corazón es más definido. Existe cardiomegalia, es decir el peso cardiaco, está aumentado. (>400 g) Se describen en esta etapa tres tipos según el remodelado del ventrículo izquierdo previamente caracterizados en los primeros estudios realizados en nuestro centro: corazones de Tipo 1, de Tipo ambiguo y Tipo 2.

**Los corazones de Tipo 1**, poseen un peso aumentado (X 529,85 g) con un predominio franco de la hipertrofia sobre la dilatación que se manifiesta con una cavidad ventricular izquierda pequeña con aumento del espesor de la pared pudiendo alcanzar hasta 20 mm (hipertrofia concéntrica) y predominio del diámetro ápico-basal sobre el diámetro máximo transversal. En estos corazones usualmente, el ventrículo derecho está dilatado (82,1%) así como la aurícula derecha y pueden observarse trombosis de la misma a nivel de la orejuela o de sus paredes. Estos corazones correspondieron a pacientes que no presentaron insuficiencia cardíaca congestiva sino arritmias y fenómenos tromboembólicos periféricos que les produjo la muerte.

**Los corazones de Tipo ambiguo** se caracterizan por: cardiomegalia, cavidad ventricular izquierda moderadamente dilatada, paredes aumentadas de grosor y lesión apical sin trombosis. El corazón presenta un patrón de cavidad ventricular indefinido que no se puede clasificar como de tipo 1 o 2 por su remodelado ventricular, el cual no es concéntrico ni excéntrico. Este grupo intermedio entre ambos tipos, ha sido también denominado de transición debido a una mayor dilatación de todas las cavidades cardíacas comparado con los corazones de Tipo 1. Los corazones de Tipo 1 y Tipo ambiguo, presentan usualmente, una lesión apical pequeña, circunscrita, bien delimitada (en saca bocado), generalmente limpia sin trombosis parietal. El límite con el músculo vecino, es abrupto. Igualmente pueden presentar otro adelgazamiento de la pared ventricular izquierdo en la región subvalvular mitral (Ambos adelgazamientos, el apical y el subvalvular, pueden coexistir en el mismo ventrículo izquierdo). Cuando los corazones no presentan lesiones apicales, son macroscópicamente indistinguibles de una miocardiopatía dilatada o

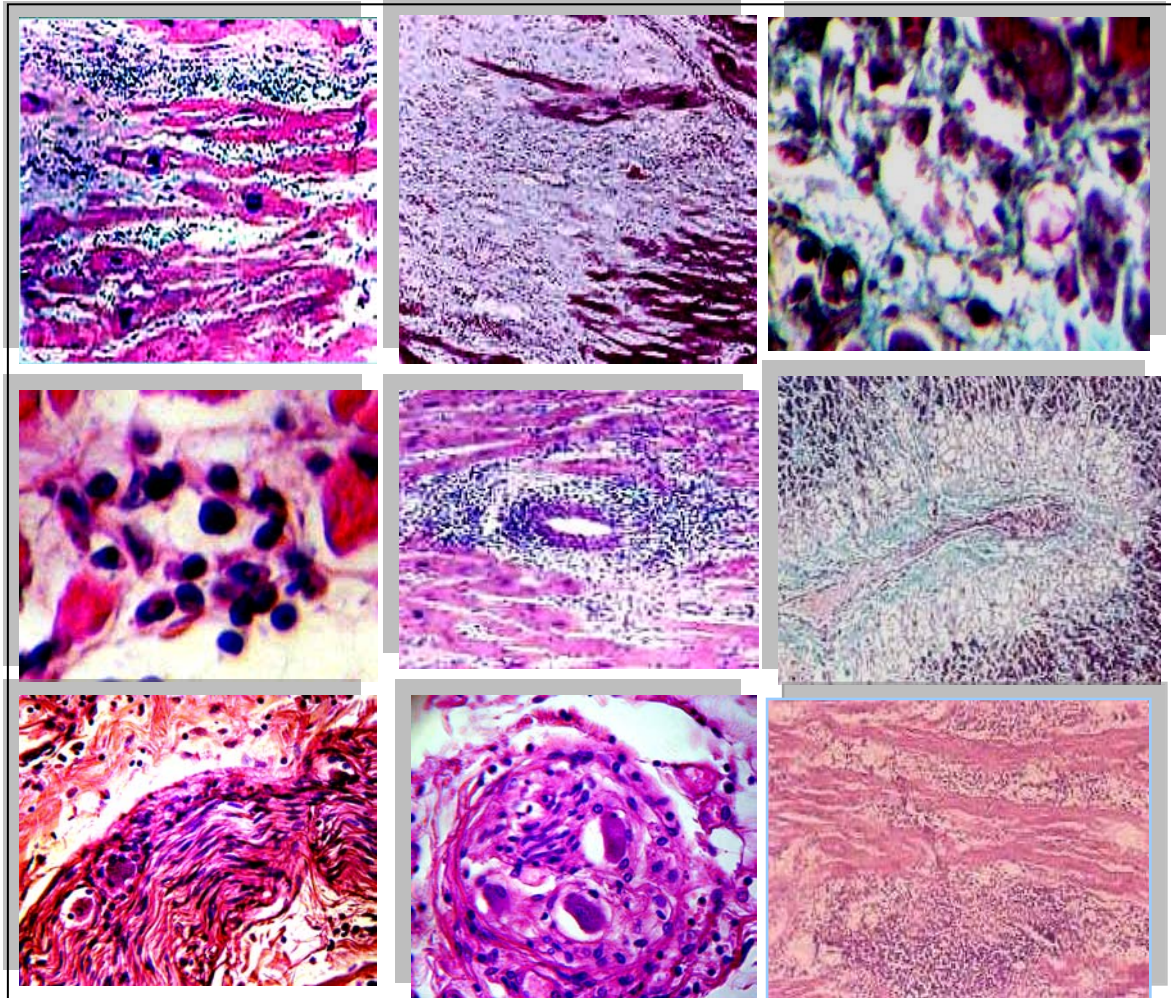
hipertensiva. El análisis clínico es importantísimo para diferenciar macroscópicamente, ambos tipos de patología, sin dejar de aclarar que ambas enfermedades pueden ser coincidentes en el mismo paciente.

Los corazones de Tipo 2, alcanzan un mayor peso y tamaño. (X 536,28 g) y presentan mayor cantidad de trombosis parietales a nivel de ventrículos y aurículas especialmente en la aurícula derecha y ventrículo izquierdo. Corresponden a pacientes que presentaron insuficiencia cardíaca congestiva global. En la cavidad ventricular izquierda predomina la dilatación sobre la hipertrofia y la enmascara. El espesor parietal es igual o menor de 13 cm. y la trabeculación muscular es exagerada debido al volumen diastólico final aumentado. Los tractos de entrada y de salida ventriculares están aumentados. El endocardio parietal suele estar difusamente engrosado por la sobrecarga crónica (miocardiopatía de sobrecarga) y el endocardio de las valvas del aparato valvular mitral valvular también puede estar engrosado por fibrosis, (Lesiones de chorro) cuando coexiste una insuficiencia mitral secundaria a la dilatación del anillo mitral y al desplazamiento del músculo papilar posteromedial. La lesión apical puede perder en ocasiones su aspecto típico en saca bocado y presentarse como una “geoda” al trombosarse. En algunos corazones, la lesión apical es mayor y se extiende a las paredes vecinas pudiendo adoptar un aspecto parecido a las cicatrices de infarto por isquemia cardíaca o presentar grandes trombosis. Las aurículas, especialmente la derecha a nivel de la orejuela, suele presentar trombos. Las cicatrices miocárdicas, la epicarditis focal y la aterosclerosis coronaria es más frecuente en este tipo de corazón.

### **Histopatología de la miocarditis chagásica crónica.**

Aspectos generales: Podemos asegurar que en la miocarditis crónica chagásica, ningún segmento cardíaco y ninguna de sus capas (endocardio, miocardio y pericardio) se encuentran exentos de lesiones, las cuales son de carácter focal y variables de acuerdo a la fase evolutiva de la enfermedad. La clasificación histológica, es difícil y no se adapta a los criterios de Dallas. No existe un consenso sobre los diferentes tipos de patrones histológicos en relación a la evolución clínica, aunque se han señalado algunos rasgos del proceso inflamatorio como se ha mencionado anteriormente.

En el miocardio los cambios histopatológicos se observan tanto en el compartimiento no miocítico y/o intersticial especialmente en la matriz colágena endomisial y perimisial y en el miocardio tanto de trabajo como de conducción. (Figura 23).



**Figura 23.** Microfotografías del aspecto histopatológico de la miocarditis crónica chagastica

**Alteraciones del miocardio: compartimiento no miocítico:  
Infiltrado inflamatorio y remodelación de la matriz colágena extracelular.**

Desde el punto de vista histopatológico general, al microscopio de luz, la miocarditis crónica chagástica humana y experimental se caracteriza primeramente por la presencia de infiltrado inflamatorio y por la remodelación de la matriz colágena extracelular especialmente distribuidos en el miocardio del ventrículo izquierdo y en las aurículas. El infiltrado inflamatorio es multifocal

en el músculo cardiaco de trabajo y de conducción y se extiende en las zonas vecinas del pericardio y endocardio en todas las paredes cardíacas. El grado de infiltrado inflamatorio y de fibrosis varía de un caso a otro y de un área a otra y de un campo visual óptico a otro.

El predominio de uno de estos cambios sobre el otro, (infiltrado inflamatorio predominante o fibrosis intersticial predominante) depende de la fase evolutiva de la miocarditis chagásica. El carácter de estas lesiones siempre es focal o confluyente de tal manera que, persisten áreas de miocardio con pocos cambios inflamatorios ni fibrosis.

Según algunos autores, el grado de infiltrado inflamatorio depende de la fase de la enfermedad.

Sin embargo, Higuchi y col, demostraron mediante inmunohistoquímica que existe una correlación entre la presencia del *T cruzi* en el miocardio y el grado de severidad de la reacción o infiltración por células inflamatorias.<sup>111, 112</sup>

El tipo de infiltrado inflamatorio es mononuclear (100.0%): linfocitos CD4 y CD8 y subtipos (Th1, Th2), monocitos, macrófagos (CD68), eosinófilos y eventualmente mastocitos. La presencia de eosinófilos activados en los casos más severos de miocarditis, agrava la lesión de los miocitos por acción de la toxina eosinofílica.<sup>113- 115</sup> Los nódulos linfoides y células gigantes no son infrecuentes (12.0 y 18.0%) especialmente en los casos más avanzados.

La remodelación de la matriz colágena del compartimiento extracelular del miocardio (100.0%) se expresa como fibrosis, la cual constituye la fase final o cicatricial del proceso inflamatorio bajo las formas de fibrosis reactiva: endomisial, perimisial, perivascular y fibrosis reparativa o en parches (< 1cm) sustitutivos del miocardio degenerado, atrófico, apoptótico o necrótico. La fibrosis endomisial está relacionada con el engrosamiento de las membranas basales tanto de los cardiomiocitos como de los capilares intramiocárdicos, la cual ha sido demostrada desde hace más de una década.<sup>116</sup> En varios campos del miocardio, la fibrosis es predominantemente subepicárdica o subendocárdica y se acompaña eventualmente de trombosis en vías de organización. Las bandas de tejido colágeno perimisial envuelven islotes de fibras miocárdicas con atrofia y evidentes cambios degenerativos y escaso infiltrado inflamatorio. En las zonas de adelgazamiento parietal, la fibrosis es confluyente y más densa pudiendo no contener fibras cardíacas ni infiltrado

inflamatorio. La regla es, que no se encuentran nidos parasitarios en ellas. Rossí ha descrito un patrón de remodelación colágena intersticial diferente en la miocarditis crónica chagásica, remarcando su mayor severidad y extensión en comparación con el observado en casos de miocardiopatía dilatada, miocardiopatía hipertrófica y de Fibrosis endomiocárdica.<sup>117</sup>

En los casos forenses, encontramos una alta frecuencia de infiltración adiposa del miocardio en el miocardio ventricular de casos de miocarditis fallecidos por muerte violenta.

### **Lesiones de la microvasculatura.**

Desde los primeros estudios anatomopatológicos de la miocarditis chagásica en Venezuela y en otros países, han sido descrito lesiones de la microvasculatura miocárdica estableciendo la semejanza histológica entre la miocarditis crónica chagásica y la cardiopatía isquémica, expresada por la fibrosis miocárdica y la miocitolisis. Varios patólogos describieron alteraciones de la microvasculatura inespecíficos como: edema intermiofibrillar, dilatación vascular, hemorragia, hinchazón de las células endoteliales así como engrosamientos de las paredes arteriolas con infiltrados inflamatorios.<sup>118-122</sup>

Otros investigadores venezolanos, relacionaron la aterosclerosis y coronaritis como responsables de infartos anémicos miliares observados en el miocardio de trabajo y en las células de tejido de conducción (Haz de His).<sup>123</sup>

Doenhert y col describieron la presencia de microcavernomas intramiocárdicos como evidencia de los severos problemas de la circulación intramiocárdica.<sup>124</sup>

En un estudio postmortem realizado en el IAP en 162 corazones con miocarditis crónica, encontramos lesiones de la microvasculatura (capilares, vénulas precapilares, arteriolas, arterias medianas intramurales y vasos de Tebesio) en el 28,3% de los casos, especialmente relacionadas con la remodelación colágena, las cuales nunca fueron difusas. Predominó la dilatación capilar focal severa con pericapilaritis y las arteritis estenosantes y periarteritis. Los capilares dilatados, ingurgitados estaban localizados especialmente alrededor de las cicatrices miocárdicas y en los focos inflamatorios. La mayoría de los capilares mostraron núcleos endoteliales prominentes. En tres casos se apreciaron formaciones vasculares constituidas por capilares muy dilatados los cuales en conjunto tenían el aspecto de los

microangiomas o microcavernomas mencionados anteriormente ,descritos por Doenhert .<sup>125</sup>

En nuestro estudio con corazones con miocarditis crónica de forense encontramos lesiones de la microvasculatura, en más del 57.0% de los casos.

Recientemente a la luz de los conocimientos extensos que han surgido con las investigaciones sobre el endotelio y sus funciones, sugerimos que la disfunción endotelial causada por acción directa de los parásitos circulantes en el torrente sanguíneo, es uno de los primeros eventos patológicos. Este planteamiento señala que los parásitos en contacto con el endotelio capilar de las pequeñas ramas de la vasa vasorum, provocan el inicio de la cascada de fenómenos que culminan en un proceso inflamatorio e isquémico del miocardio.

#### **Alteraciones del compartimiento miocítico.**

Las lesiones de los cardiomiocitos son menos prominentes que en la miocarditis aguda. Se observan áreas de necrosis coagulativa en focos de infiltrados inflamatorios densos mixtos y zonas de miocitolisis perivascular. En investigaciones realizadas en el Brasil, ha sido demostrado que la necrosis es prácticamente la única forma de muerte celular, ya que no se demostró apoptosis mediante el método de TUNEL ni de evidenció la expresión de p53 en los focos de muerte celular.<sup>126</sup> Otras lesiones celulares se presentan especialmente en el subendocardio y en el miocardio vecino a los focos de infiltrado inflamatorio, tales como: degeneración hidrópica, miofibrillolisis y lesión de Magarinos Torres. La atrofia de fibra es importante en las áreas de fibrosis endomisial y especialmente, en las zonas de fibrosis reparativa, se caracteriza por una importante disminución de grosor de la fibra miocárdica y es más evidente en los cortes transversales con presencia de pigmento de desgaste lisosomal perinuclear y pérdida de la estriación observable en los cortes longitudinales.

Los cambios secundarios a la sobrecarga mixta sobre las fibras miocárdicas, son esencialmente: hipertrofia celular con cambios nucleares evidentes (hipercromatismo, polimorfismo, halo perinuclear, vacuolización nuclear y binucleismo.) y fibrosis secundaria a la hipoperfusión, cuando la hipertrofia es mayor de 500 g. En general no se encontraron diferencias evidentes entre las lesiones histológicas de los corazones de un tipo u otro (Tipos I, II y III). Exclusivamente, se pudo demostrar que la miocitolisis fue mas



frecuente en los corazones con pesos aumentados que los que tenían pesos normales (29.0 vs 9.0%).

### **Parasitismo miocárdico.**

La presencia del *T cruzi* en esta fase de la enfermedad es rara. Se invoca la hipótesis inmunitaria que explica la escasez de parásitos aún en sitios de mayor inflamación. (Mimetismo molecular entre el *T cruzi* y las fibras miocárdicas, autoantígenos, presentación de epítopes). En nuestro país, en 1949, Carbonell realizó un estudio minucioso en cinco corazones de miocarditis crónica con la finalidad de encontrar *T cruzi*. Examinando más de 500 secciones histológicas en cada corazón, encontró el agente causal en dos de ellos, lo que evidenciaba lo difícil y minuciosa que era la búsqueda.<sup>34</sup> Koberle en Brasil (1961), enfatizó sobre esta característica histológica, asegurando que era necesario examinar centenares de cortes histológicos para encontrar los nidos de formas amastigotas en el miocardio utilizando las coloraciones de rutina examinados al microscopio óptico.<sup>127</sup>

En 1976, se realizó una nueva investigación en nuestro centro (IAP) con el mismo objetivo de encontrar el agente causal de la enfermedad, pero en una serie mayor de casos y buscando al azar el parásito en un número menor de secciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina (<100 secciones por caso). Se examinaron 171 corazones de miocarditis crónica con características macroscópicas propias del Chagas crónico. En 23 casos de miocarditis crónica chagásica encontramos 256 nidos parasitarios en total (entre 1 y hasta 28 por caso) localizados predominantemente en VI, VD y AD. La distribución porcentual y de proporciones acumuladas demostró que con 38 cortes por caso se obtuvo una positividad del 26% y con 40 cortes por caso, el 50% con nidos parasitarios. Lo importante de este trabajo fue demostrar que con más de 98 cortes por caso, la proporción de clasificación fue menor o igual al 1%. Por esta razón era infructuosa, la búsqueda de parásitos después de 100 cortes/caso. Los nidos parasitarios observados se encontraron en el miocardio de trabajo ventricular y auricular, en células endoteliales, en células del sistema nervioso intramiocárdico y nunca en las áreas de adelgazamiento apical o de otra localización. Generalmente, los parásitos se localizan en la región paranuclear, presentan blefaroblasto y un halo claro periférico.<sup>128</sup>

Domínguez y Sanabria describieron las características del parásito después de la infección experimental al décimo cuarto día, las cuales estaban en diversos estadios de evolución, alterados o en vías de degeneración con dilatación de las cisternas perinucleares, vacuolización del citoplasma y alteración del quinoplasto. Consideraron que el halo perinuclear periparasitario se debe a la desaparición de los componentes del sarcoplasma, figuras mielínicas y fragmentos de membrana pelúcida por acción de las proteasas del parásito.<sup>69, 70</sup>

Los nidos parasitarios pueden presentar una reacción inflamatoria periférica o bien cursar con focos de necrosis con intensa reacción inflamatoria. Generalmente, el parásito no presenta preferencia ubicatoria en las paredes cardíacas, aunque no se ha realizado estudios de mapeos completos cardíacos, lo que resultaría muy costoso y laborioso. Evidencias de la presencia del parásito en sangre en pacientes con miocarditis crónica chagásica ha sido demostrado hace más de 20 años, con métodos precisos como el PCR.<sup>129-131</sup>

Desde el desarrollo de la inmuno histoquímica hace más de dos décadas, la presencia del *T cruzi* mediante la detección de su antígeno con inmunohistoquímica, ha sido demostrado más evidentemente en miocarditis crónica y aún en estrecha relación con las áreas de mayor infiltrado inflamatorio.<sup>132</sup> Estudios nuestros mas recientes demostraron el mimetismo parasitario en el miocardio especialmente en los discos intercalares donde también se demostraron lesiones evidentes a la ultraestructura. La hipótesis planteada es que estos elementos celulares constituyen la puerta de entrada del parásito a la célula cardíaca.

### **Lesiones del sistema nervioso autónomo cardíaco y Cardioneuropatía chagásica. Lesiones del sistema de conducción cardíaco. Nódulo de Aschoff y haz de His.**

Desde las primeras descripciones de Koberle en el Brasil en la década del 50, sobre la enervación parasimpática en los corazones chagásicos, se han planteado varias teorías. Los estudios histológicos y ultraestructurales han demostrado la destrucción de los ganglios autónomos parasimpáticos, considerando estos cambios como la base morfológica de la disautonomía manifestada en los pacientes chagásicos. Igualmente, ha sido comprobada la presencia de parásitos en los fibroblastos de los ganglios parasimpáticos

subepicárdicos cardíacos, en las células de Schawnn y células satélites así como una reacción inflamatoria (periganglionitis y ganglionitis), siendo el proceso inflamatorio uno de los principales causantes de las lesiones neuronales observadas como cromatolisis, picnosis y cariorrexis.<sup>133-135</sup>

En Venezuela también se han descrito lesiones de ganglionitis y periganglionitis en los ganglios parasimpáticos auriculares en la miocarditis aguda experimental y en corazones humanos de autopsia. El toque nervioso fue menos severo que el reportado en los trabajos brasileños y argentinos, así como la ausencia de lesiones ganglionares del sistema digestivo con la consiguiente formación de megaesófago y megacolon. Estos hechos han sido considerados como la consecuencia de la infección por diferentes cepas de *T cruzi* propias de cada país o región.<sup>136, 137</sup>

Puigbó y col, han demostrado mediante tests farmacológicos y bioquímicos realizados en pacientes chagásicos, que existe en la enfermedad de Chagas, una disfunción autonómica que constituye una de las primeras manifestaciones de la enfermedad.<sup>138</sup>

Estudios histológicos e histoquímicas fueron realizados para determinar la actividad simpática(catecolaminas) y parasimpática( acetilcolinesterasa) en la miocarditis crónica chagásica y otros tipos de miocardiopatías .En todos los casos fueron evaluadas las fibras nerviosas terminales miocárdicas simpáticas y parasimpáticas en relación a los cambios inflamatorios y fibrosis, demostrándose que las lesiones parasimpáticos son más severas en la miocarditis crónica chagásica que en otras miocardiopatías y que la enervación está relacionadas con la severidad del procesos inflamatorio.<sup>139</sup>

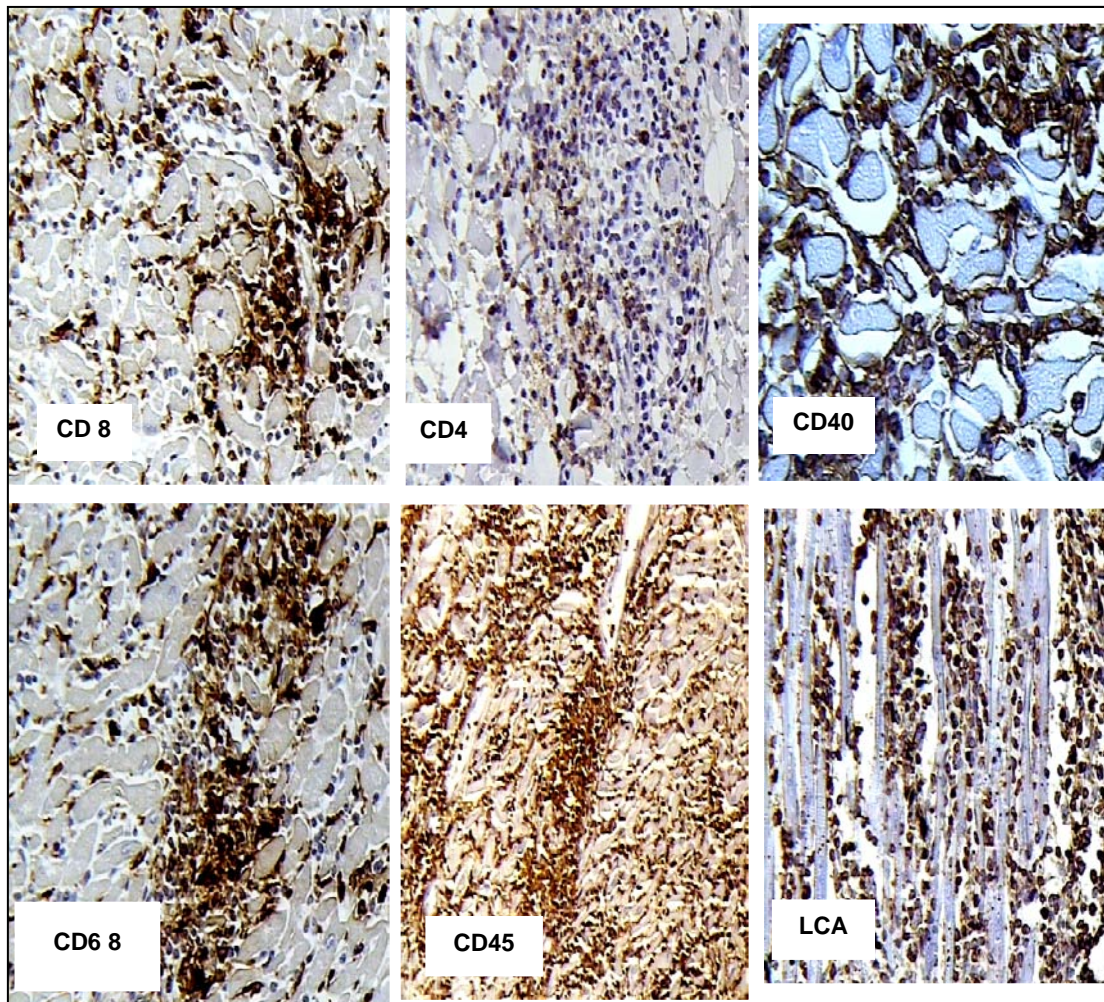
Las lesiones del tejido especializado de conducción han sido objeto de investigaciones tanto en el Brasil como en Venezuela en corazones humanos con miocarditis chagásica aguda y crónica y en animales de experimentación. Se demostró en ellos, que las lesiones son inespecíficas y secundarias al proceso inflamatorio. Las lesiones inflamatorias y de reparación cicatricial son las base de las arritmias, bloqueos etc observados en los pacientes chagásicos.<sup>140-143</sup>

### **Inmunohistoquímica**

La aplicación de métodos inmunohistoquímicos a la ultraestructura permitió evidenciar anticuerpos circulantes en el endocardio y en otras

estructuras vasculares e intersticio del músculo estriado en la enfermedad de Chagas.<sup>144</sup> Nosotros también pudimos comprobar los mismos fenotipos de las células inflamatorias que numerosos autores han demostrado en los casos de miocarditis crónica chagásica.

(Figura 24).



**Figura 24.** Microfotografías del aspecto del miocardio el cual muestra el fenotipo de las células inflamatorias que caracterizan la miocarditis Chagásica crónica. Inmunohistoquímica y fotografías. Lic HT Ayarit Villaroel de Briceño

El infiltrado inflamatorio en la miocarditis crónica también fue estudiado mediante inmunohistoquímica por Milei y col, en biopsias endomiocárdicas y en corazones de casos con miocarditis crónica chagastica .Utilizaron antígeno leucocitario común, CD 20(linfocitos B), CD 68 (macrófagos), kappa y lambda cadena ligera y CD45RO (linfocitos T) y CD 34 para detectar células

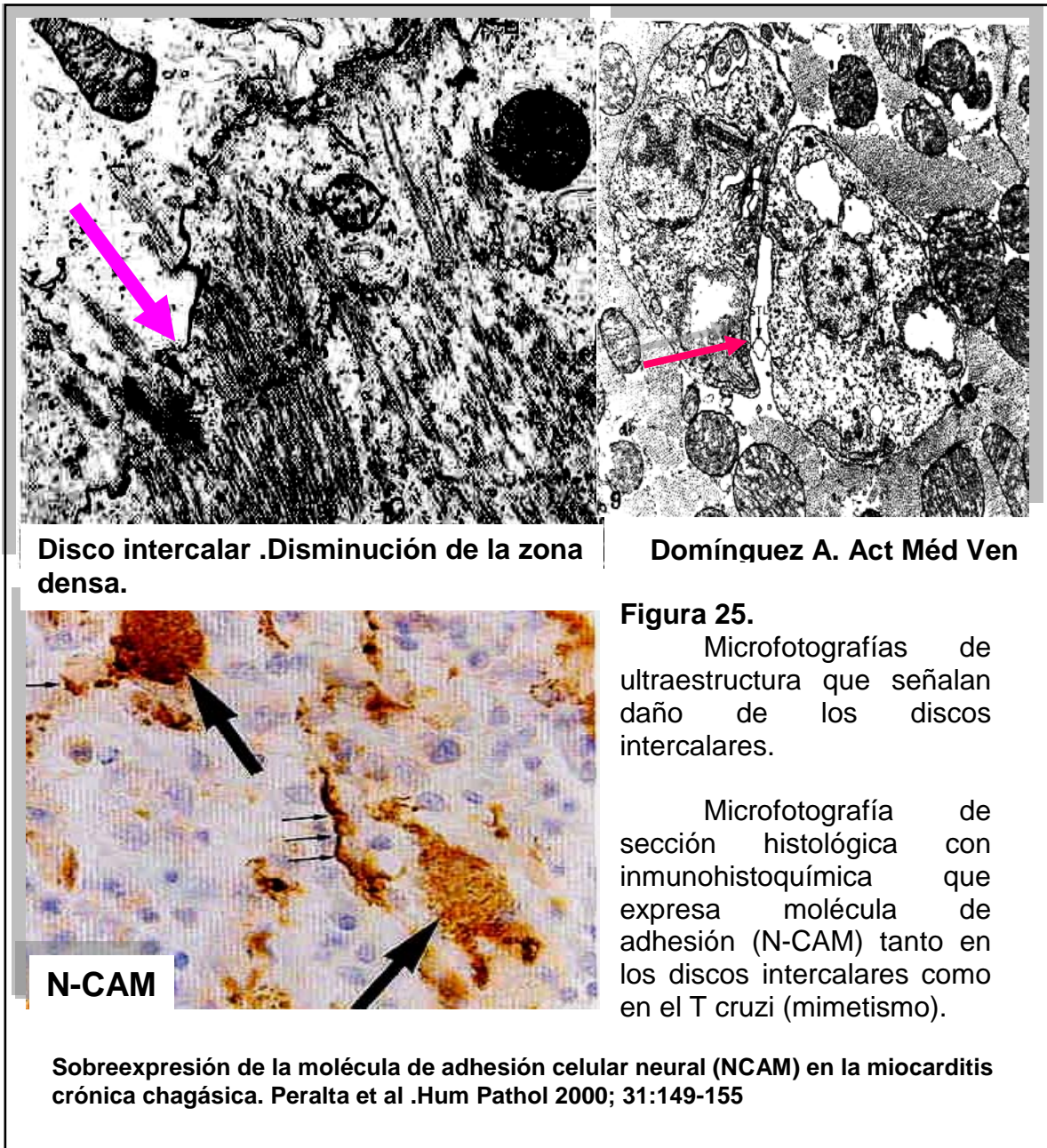
endoteliales. Realizaron dobles inmunoreacciones para la demostración simultánea de linfocitos T (CD45) y macrófagos comprobándose inmunoreacción más importante en macrófagos (CD68) (30.0%) y linfocitos T (CD45RO)(26.5%) y menor en los linfocitos B(CD20)(10.5%) y otras células mononucleares no reactivas. Los contactos entre macrófagos y linfocitos eran frecuentes.<sup>145</sup> Los estudios de Soares y col demostraron la relación existente entre los subtipos de linfocitos (Th) 1 y 2 y la expresión de Interleuquina-4, así como el grado de inflamación y el parasitismo miocárdico en las formas crónicas de la enfermedad.<sup>77</sup>

Peralta y col analizaron la expresión de moléculas de adhesión neural (NCAM) en corazones humanos normales y en miocarditis chagásica crónica y aguda humana y experimental. Encontraron una importante sobre expresión de NCAM en los discos intercalares de los cardiomiocitos en la miocarditis chagásica aguda y crónica. Igualmente, la señal de NCAM se detectó en los nidos de amastigotas intracardiomiocitos. Al contrario, la expresión de proteínas de adhesión N-caderina y b-catenina, fue solamente observada en los discos intercalares distorsionados por la infección. Estos hallazgos dieron apoyo a la teoría sustentada acerca de la puerta de entrada del *T cruzi* en la células miocárdicas. La expresión de NCAM en los parásitos y discos intercalares, sugieren que estos últimos serían la vía de penetración celular preferencial de los parásitos.<sup>146</sup> (Figura 25).

Otros investigadores han descrito anticuerpos (EVI) en el endotelio, estructuras vasculares y en el intersticio del miocardio (nervios) y depósitos de inmunoglobulinas en el intersticio y superficies de los miocitos y capilares.<sup>147-149</sup> Reis y col han demostrado autoanticuerpos contra la miosina y desmina resultando el daño celular como respuesta linfocítica local contra los antígenos parasitarios o antígenos del propio huésped.<sup>150</sup>

Se han observado alteraciones progresivas de la matriz extracelular a nivel de la fibronectina y laminina de la membrana celular, antígenos de histocompatibilidad mayor y moléculas de adhesión en el miocardio y otras producidas por el parásito. Así mismo, depósitos de neurotoxina y peroxidasa eosinofílica liberada por los eosinófilos en el intersticio miocárdico. Igualmente ha sido comprobado la intervención de los complejos de histocompatibilidad I, II como presentadores de antígenos parasitarios a los linfocitos T4 y T8.<sup>151-154</sup>

En Venezuela, la presencia de HLA-C03 fue considerado como un factor que confiere una susceptibilidad para desarrollar cardiomiopatía chagásica en los sujetos seropositivos para el *T cruzi*.<sup>155</sup> Desde la década del 80, ha sido implementado uno de los métodos inmunohistoquímico para la identificación de las formas amastigotas del *T cruzi* en cortes procesados por inclusión de parafina.<sup>156</sup>



**La biopsia endomiocárdica en la miocarditis crónica chagásica.**

En nuestro país, los estudios del miocardio a nivel celular y subcelular, ultraestructural mediante la biopsia endomiocárdica permitieron comprobar una escala de lesiones progresivas en etapas preclínicas y pre-orgánicas.<sup>157</sup>

También se pudo identificar la reacción inflamatoria y compararla a las reacciones del rechazo cardiaco postrasplante e identificar cada célula inflamatoria y establecer su papel en la patogénesis de la enfermedad. Igualmente, comprobar la expresión de citoquinas, moléculas de adhesión y otras, identificadas con histoquímica o inmunohistoquímica.<sup>158</sup>.

Un importante aporte fue demostrar, que los antígenos de *T cruzi* pueden ser detectados frecuentemente en el miocardio mediante técnicas inmunohistoquímicas que usan anticuerpos anti-*T cruzi* y que su presencia está significativamente relacionada con la intensidad de la reacción inflamatoria, de tal manera que el papel del parásito en las formas crónicas de la cardiomiopatía chagásica, es importante. Investigadores observaron que la mayoría de los linfocitos T, estaban asociados a miocitos degenerados o necróticos.<sup>159</sup>

En un estudio comparativo entre miocarditis crónica chagásica y miocarditis inespecífica, demostramos cambios ultraestructurales en la miocarditis crónica chagásica constituida por: alteraciones severas del sarcolema (80.0%), alteraciones mitocondriales (8.0%), incremento del colágeno, dilatación del retículo sarcoplásmico (40.0%), cambios vasculares(40.0%) y aumento del espesor de la membrana basal(50.0%). Entre otros hallazgos, todos fueron inespecíficos.<sup>160</sup>

**Técnicas de biología celular: Reacción de la PCR e hibridization.**

La identificación del parásito mediante la técnica del PCR aumenta la sensibilidad y especificidad de la búsqueda del *T cruzi* en los tejidos y su relación con el proceso inflamatorio.<sup>161</sup> En cambio, la hibridización "in situ" provee pocas evidencias de *T cruzi* intacto aún en sitios de inflamación severa. Sin embargo, las técnicas de micro manipulación detectan remanentes de DNA nuclear y de quinoplasto en todo el tejido miocárdico.<sup>162</sup> Con la técnica del PCR ha sido demostrado la persistencia del parásito (91.3%.) en el miocardio

de individuos seropositivos con evidencias de miocardiopatía crónica chagásica diagnosticada mediante biopsias endomiocárdicas <sup>163</sup>

## CONCLUSIONES:

El estudio anatomopatológico clásico de la miocarditis chagásica en todas sus etapas, fue fundamental para establecer la naturaleza íntima tisular de los cambios observados en su desarrollo y relacionar los cambios orgánicos con los radiológicos e imagenológicos. Actualmente, la patología a nivel celular y subcelular está enfocada hacia el conocimiento de la interrelación que existe entre el parásito y las estructuras celulares a nivel molecular. La utilización de técnicas como la hibridización *In situ*, PCR y la inmunohistoquímica son herramientas que permiten ahondar en la patogénesis de la enfermedad. Desde más de una década (1994), la OMS impulsó las investigaciones para el análisis del genoma de varios parásitos, entre ellos el del *T cruzi* (The *Tripanosoma cruzi* Genome initiative) para el control de la Enfermedad de Chagas.<sup>164</sup>

. El fin de muchas investigaciones es la prevención de la enfermedad por medio de la vacunación o del tratamiento específico antiparasitario, al interferir con el metabolismo del parásito o al impedir su crecimiento y su acción patógena en los tejidos del huésped.

Aunque la OMS ha reportado que la Enfermedad de Chagas se encuentra en vías de erradicación, en Venezuela, aún constituye un problema que afecta a la población con pocos recursos socioeconómicos.<sup>165, 166</sup>

Del 1 al 3 del mes de julio de 2008, se efectuó en Caracas la VIII Reunión de la Comisión Intergubernamental (CI) de la iniciativa andina de control de la transmisión vectorial y transfusional de la enfermedad de Chagas (IPA). Los organismos patrocinantes fueron: OPS/OMS con la participación de representantes de los ministerios de salud y los de la agencia española de cooperación Internacional (AECI) y del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), Venezuela.<sup>167</sup>

A pesar de este hecho, no se ha logrado desviar la atención a un grupo importante de clínicos y patólogos hacia esta materia. Es evidente la disminución de investigaciones en este sentido en nuestro país y son escasos los ensayos para el desarrollo de nuevos fármacos contra esta enfermedad,



excepto algunos como: el WC.9 o tiocianato de 4 fenoxifenoxietilo, la enzima farnesil pirofosfato sintetasa y los nuevos ISE investigados por Urbina en Venezuela.<sup>168</sup>

La publicación de casos de ECh en autopsias aún es vigente, ya que permite dar un seguimiento a la prevalencia de la enfermedad en los diferentes países donde es endémica y en los países donde su aparición más reciente se debe a los movimientos migratorios, por Ej en los países europeos donde la emigración de latinoamericanos como bolivianos, colombianos, ecuatorianos y venezolanos, ha aumentado en los últimos años. Es importante la vigilancia en los bancos de sangre para evitar la vía transfusional. Se ha calculado que hay 100 millones de personas a riesgo de contraer Chagas en la franja del continente americano que se extiende desde el sur de los Estados Unidos de Norteamérica hasta la Tierra del Fuego. En Estados Unidos, la emigración de varios millones de pobladores procedentes de zonas endémicas chagásicas, ha llevado a muchos centros médicos a tomar medidas preventivas extremas sobretodo en los especímenes postoperatorios de pacientes operados con cirugía cardiovascular con el fin de descartar la transmisión del *T cruzi*.<sup>169</sup> Agrava el problema cuando se ha comprobado que la transmisión oral es una forma de contagio frecuente y agresivo. Como lo expresó Storino, en su artículo: "la cara oculta de la enfermedad de Chagas", los múltiples aspectos de la enfermedad de Chagas que padece el paciente chagásico, determinan que este problema sea de difícil solución.<sup>170</sup>

## Referencias

1. Pifano C F: Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas en Venezuela. Arch Ven Med Trop Parasitol Méd 1960; 3:73-99
2. Tejera Guevara E: La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas en Venezuela. (Nota preliminar). Gac Méd Caracas 1911; 26:104-108.
3. Pifano C F: Nueva tripanosomiasis humana de la región geotrópica producida por el *Tripanosoma rangeli* con especial referencia a Venezuela. Arch Ven Patol Trop y Paras Méd 1954; 2:89-12
4. Veliz B O, Morillo N, Torres R, Bonfante R: *Rhodnius Nevai* naturalmente infectado con tripanosoma cruzi en la ciudad de Barquisimeto, Estado Lara, Venezuela. Act Méd Ven 1972; 19:392-393.
5. Domínic SA. De las miocarditis crónicas en Venezuela. Gac Med Caracas 1944; 52:157-164.

6. Urdaneta-Morales S, Nironi I. *Trypanosoma cruzi* in the anal glands of urban opossums. I—Isolation and experimental infections, Mem Inst Oswaldo Cruz 91; 1996, pp. 399–403
7. Herrera L, Urdaneta-Morales S. Synanthropic rodent reservoirs of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in the valley of Caracas, Venezuela, Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1997; 39: 279-282,
8. Reyes-Lugo M, Rodríguez-Acosta A. Domiciliation of the selvatic Chagas disease vector *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811 (Triatominae: Reduviidae) in Venezuela. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2000; 94:508-601
9. Carrasco HJ, Torrellas A, García C, Segovia M, Feliciangeli MD. Risk of *Trypanosoma cruzi* I (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring States, Venezuela. Int J Parasitol 2005; 35:1379-1384.
10. De Scorza, Herrera L, Urdaneta-Morales S. *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*: histopathology in mice infected with strains isolated from *Didelphis marsupialis* from the valley of Caracas (Venezuela), Acta Cient. Venezolana 1996; 47: 244-247.
11. Rodríguez-Morales A J. Chagas disease: an emerging foodborne entity? J Infect Dev Countries 2008; 2:149-150,
12. ProMED-mail. Brote escolar, enf. Chagas oral: Sospecha - Venezuela (Vargas). ProMED-mail 2009; 03 de abril: disponible en: <<http://www.promedmail.org/>>. 10 april 2009
13. Alarcón de Noya B, Díaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello I, Zavala-Jaspe R et al. Large urban outbreak of orally –acquired acute Chagas disease, at a school in Caracas, Venezuela. J Infect Dis 2010; 201:1308-1315.
14. Suárez J, Suárez C, Alarcón de Noya B, Espinosa R, Chiurillo MA, Villaroel PA, De Martín F, Paiva M, Díaz-Bello Z, Valderrama E, Estrada D, Vivas E. Enfermedad de Chagas sistémico en fase aguda por transmisión oral: diagnóstico integral de un caso autopsiado. Gac Méd Caracas 2010; 118(3):212-222
15. Suárez C, Merino Niño F. Transmisión oral de la enfermedad de Chagas: con especial referencia a la patología de los casos del año 2009. Gac Méd Caracas 2010; 118(3):189-202
16. Alarcón de Noya B, Colmenares C, Ruiz RG, Díaz-Bello Z, Noya O. La transmisión oral en la enfermedad de Chagas. Rev Fac Med 2010; 13:78-86.
17. Vergani F. Estudios sobre la vehiculación de Trypanosomas por medio de dípteros no vulnerantes. Bol Inst Invest Vete 1952; IV (20): 657-672.
18. Díaz-Ungría C. Transmisión experimental del *Trypanosoma cruzi* en los vertebrados. I. Contaminación bucal a partir de heces de *Rhodnius prolixus* infestados. Rev Vet Venezolana 1964; XVI ( 95): 341-352,
19. Díaz-Ungría C. Transmission du *Trypanosoma cruzi* chez les Mammifères. I. - Contamination par voie buccale à partir des excréments de *Rhodnius prolixus* infestés. Ann Parasitol (Paris) 1966; 41(6): 549-571.
20. Díaz-Ungría C, Yépez C, Salvador M, Torres Artigas R. La vía bucal en la transmisión de las tripanosomiasis animales. Bol Acad Cien Fis 1967; 74:33-50.

21. Díaz-Ungría C, de Viccari J. Transmisión bucal con *Trypanosoma venezuelense*. Bol Acad Cienc Fis Mat Nat 1967; 27(74): 51-56,
22. Díaz-Ungría C, Yépez MS, Torres-AR, de Viccari J. Contaminación gástrica con "*Trypanosoma cruzi*". Gac Med Caracas 1967; 75(1-6):113-115.
23. Díaz-Ungría C. La contaminación por vía buco-gástrica y ocular en los tripanosomas. Resumen y nuevas experiencias. Rev Vet Venezolana 1968; 24:39-66.
24. Díaz-Ungría C. La vía bucal en la transmisión de las trypanosomiasis animales. Bol Acad Cienc Fis Mat Nat 1967; 27(74): 33-50.
25. Díaz-Ungría C. Estudio experimental del *Trypanosoma cruzi* en el perro y otros vertebrados. El problema de la transmisión. Kasmira 1968; 3: 73-88,
26. Díaz-Ungría C, Zeuss M. Transmisión del *Trypanosoma evansi* y *Trypanosoma cruzi* a partir de heces de animales infectados por vía bucal 1. *Trypanosoma evansi*. Rev Vet Ven 1971; 30:176- 187.
27. Díaz-Ungría C. Transmisión del *Tripanosoma evansi* y *Tripanosoma cruzi* a partir de heces de animales infectados por vía bucal. Gac Med Caracas 1971; 79: 95-101.
28. Chagas C: Processos patogénicos da tripanozomiose americana. Mem Inst Cruz 1916; 8:5- 11
29. Vianna G: Contribuicao para o estudo da anatomia patológica da "Molestia de Carlos Chagas" (Esquizotripanoze humana ou tireoidite parasitaria. Mem Inst Cruz 1911; 3: 276-283.
30. Torres MC: Estudio do myocardio na molestida de Chagas (forma aguda) I. alteracoes da fibra muscular cardíaca. Mem Inst Cruz 1917; 9: 114-120.
31. Mazza D, Basso G, Basso R, Jorg ME: Primer caso mortal de forma crónica cardíaca de enfermedad de Chagas comprobado en Menzoza Misión Estad Pat Reg Argent 1939; 42:3-9
32. Torrealba J F: La enfermedad de Chagas, una segunda serie de xenodiagnósis. El primer caso de forma cardíaca pura descrito en Venezuela. Gac Méd Caracas 1935; 42:24:373-377
33. Pifano C F: La miocarditis crónica en Venezuela. Estado analítico y sintético del problema etiopatogénico de la miocarditis crónica en el medio rural venezolano. Mem Cong Panamer. Tucumán Argent. 1950; Fasc 1 pp 47-53
34. Carbonell L M: Investigación de nidos leismánicos con corazones con miocarditis y xenodiagnóstico positivo. Rev Policli Caracas 1949; 18:87-95.
35. Brass K: Consideraciones sobre miocarditis crónica del material autopsico del Hospital Central de Venezuela. Memorias de las Primeras Jornadas Venezolanas de Cardiología, Caracas, 1957.
36. Maekelt A: Reacción de desviación del complemento para el diagnóstico de la forma crónica de la enfermedad de Chagas. Act Cient Ven 1956; 7: 128-138.
37. Suárez C .Contribución de los anatomopatólogos venezolanos al estudio de la Miocarditis Chagásica. VITAE. Academia biomédica Digital. 2004; 18 <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeDieciocho/Articulos/Anatomiapatologica/ArchivosHTML/introduccion.htm>
38. Carrasco HA, Palacios PE, Scorza C, Rangel A, Inglessis G, Sanoja CL, Molina C, Fuenmayor A La biopsia miocárdica: ¿un recurso diagnóstico? Experiencia clínica en pacientes chagásicos y con otras miocardiopatías. Rev Lat Cardiol 1982; 3:105-113.

39. Puigbó JJ, Suárez C, Giordano H: Correlaciones anatomoclínicas en la enfermedad de Chagas. Rev Fac Med 2000; 23: Supl 1(S47-S53)
40. Suárez C, Velásquez G, Avilán R J, Puigbó JJ. Enfermedades del miocardio: Estudio en 1891 autopsias (1994-1999). Gac Méd Caracas 2001; 109:497-507.
41. Puigbó JJ, Suárez C, Acquatella H, Giordano H, Ostojich K, Combellas I: Visión panorámica sobre el problema cardiovascular causado por las miocardiopatías y la enfermedad de Chagas. Rev Fac Med 1994; XVII (1): 13-24.
42. Primer Consenso venezolano sobre la enfermedad de Chagas: conclusiones y recomendaciones. Avances Cardiol 2001; 21:14-23
43. Declaración de Barquisimeto. Avances Cardiol 2002; 21:105-106
44. Pellegrino J. Transmissao da doença de Chagas pela transfusao de sangue. Primeiras comprovações sorológicas em doadores e em candidatos a doadores de sangue. Rev. Brasil Med. 1949; 6(5): 297-301.
45. Metze K, Lorand-Metze I, Almeida EA, De Moraes SL. Reactivation of Chagas' myocarditis during therapy of Hodgkin's disease. Trop Geogr Med. 1991; 43:228-233
46. Romaña C .Ganglios satélites a la puerta de entrada ocular. En: Enfermedad de Chagas, 1963
47. Mazza S, Montana A, Benitez C, Janzi EZ. Transmisión de *Schizotripanum cruzi* al niño por leche de la madre con enfermedad de Chagas. MEPR 1936 Publ N°28 pp 41-46.
48. Díaz-Ungría, C. La mosca doméstica como transmisora del *Trypanosoma cruzi*. Rev Univ Zulia 1969; 44: 114-119
49. Añez N, Crisante G, Romero M. Supervivencia e infectividad de formas metacíclicas de *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados. Bol Mal Salud Amb 2009; .49:91-96
50. Yoshida N. Molecular mechanisms of *Trypanosoma cruzi* infection by oral route. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009; 104(Suppl. I): 101-107.
51. Hoft DF, Farrar PL, Kratz-Owens K, Shaffer D. Gastric invasion by *Trypanosoma cruzi* and induction of protective mucosal immune responses. Infect Immun 1996 a; 64(9): 3800-3810.
52. Díaz-Ungría C. Transmisión experimental del *Trypanosoma cruzi* en los vertebrados. I. Contaminación bucal a partir de heces de *Rhodnius prolixus* infestados. Rev Iber Parasitol 1965; 25 (1-2): 77-85.
53. Díaz-Ungría C. Transmisión experimental del *Trypanosoma cruzi* en los vertebrados. II. Camino que sigue el *Trypanosoma* en el organismo de los vertebrados cuando se les contamina por vía bucal. Rev Vet Venezolana 1964 (96): 3-16,
54. Hoft DF. Differential mucosal infectivity of different life stages of *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg 1996; 55(4): 360-364
55. Cortez M, Neira I, Ferreira D, Luquetti AO, Rassi A, Atayde VD, Yoshida N. Infection by *Trypanosoma cruzi* metacyclic forms deficient in gp82 but expressing a related surface molecule, gp30. Infect. Immun 2003 ; 71(11): 6184-6191
56. Neira I, Silva FA, Cortez M, Yoshida N. Involvement of *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigote surface molecule gp82 in adhesion to gastric mucin and invasion of epithelial cells. Infect. Immun 2003; 71(1): 557-561

57. Cortez M, Silva MR, Neira I, Ferreira D, Sasso GR, Luquetti AO, Rassi A, Yoshida N. *Trypanosoma cruzi* surface molecule gp90 down regulates invasion of gastric mucosal epithelium in orally infected mice. *Microbes Infect* 2006 ; 8(1): 36-44.
58. Dao L: Otros casos de Enfermedad de Chagas en el estado Guárico. Primera observación de enfermedad de Chagas congénita en Venezuela. *Rev Polic Caracas* 1949; 18:17-24
59. Gavaller B de: La enfermedad de Chagas congénita. Observación anatómopatológica de dos gemelos. *Bol Mater Concepción Palacios Caracas* 1953; 4:59-6
60. Moreno E A, Araujo AA, Alarcón ME, Lugo de Yarbuh A, Araujo S, Borges R. Efectos de la infección Chagásica aguda en ratas Wistar gestantes RCv.16n.5Maraciboct.2006
61. Anselmi A, Pifano F, Suárez J A: Miocardiopatía Chagásica experimental para el estudio de las propiedades fundamentales del corazón del perro con infección Chagásica aguda y crónica. *Arch Ven Med Trop Parasitol Méd* 1962; 4:47-52
62. Puigbó JJ, Acquatella H, Suárez C, Loyo JG, Giordano H: Clinical Aspects of Chagas'disease in: Arrhythmia management in Chagas' disease. Cap. 4 ED Tentori Segura E. Hayes D. Futura Púb. Armonk, NY 2000, p 27, 49.
63. Anselmi A, Pisani F, Suárez JA.: Radiology of the in acute chronic myocardopathy. *Am Heart J* 1967; 73: 626.-643
64. Ferreira Berrutti P: Anatomía patológica de la enfermedad de Chagas. *Anal Clin Med A.* 1941-1944:523-593
65. Pifano F, Anselmi A, Alemán C, Suárez JA, Díaz-Vásquez A. Miocardiopatía Chagásica experimental. Valoración del método de investigación experimental para el estudio de las propiedades fundamentales del corazón del perro con infección Chagásica aguda y crónica. *Arch Ven Med Trop Parasitol Méd*1962; 4:37-43.
66. Anselmi A, Pifano F, Suárez JA, Domínguez A: Experimental *Schizotrypanum Cruzi* myocarditis. Correlation between histopathologic and electrocardiographic findings in experimental Chagas' disease. *Am Heart J* 1965; 70:638-656.
67. Torres M: Estudo do miocárdio na moléstia de Chagas (forma aguda). I. Alterações da fibra muscular cardíaca, *Mem Oswaldo Cruz*,1917:9 (Fasc I) :114-118.
68. Pifano CF, Domínguez CA, Romero J. Morfogénesis de las lesiones tempranas producidas por el *Schizotrypanum cruzi* en condiciones experimentales y su correlación con la infección humana. *Arch Ven Med Trop Parasit Med* 1965; 5:95-114
69. Domínguez A: Aspectos ultra-estructurales de la miocarditis Chagásica experimental en su fase temprana. *Act Méd Ven* 1971; 18:75-84
70. Sanabria A: Ultraestructura del *Trypanosoma Cruzi* en el miocardio del ratón. Parte II. Estadio de criticidia y leishmania. *Act Cient Ven* 1965; 16:174-184.
71. Andrade Z, Andrade S, Correa R, Sadigursky M, Ferrans V: Myocardial changes in acute *Trypanosoma cruzi* infection. Ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy. *Am J Pathol* 1994; 144: 1403-1411.
72. Domínguez A: Aspectos histoquímicos de la enfermedad de Chagas aguda Experimental. *Ciencia al Día* y en: Simposium "Nuevos campos de la

- investigación de la enfermedad de Chagas". I Congreso Ven Cardiol. Caracas, 1969.
73. Jaffé R, Kozma C. Uher diemyokarditis venezolana und die bedeutung autoallergenese. Rudolf-Virchow Medical Society in the of New York. Yubille, Vol 100 yh. Anniversary 1960, p 199
  74. Kierzenbaum F: Views on the autoimmunity hypothesis for Chagas disease pathogenesis. *Immunol Med Microbiol* 2003; 10: 1-11.
  75. Cabral HR, Novak I, Glocker M, Castro Viera GA. Neomicrovasculatura: factor activo en la inmunopatogenia de la cardiopatía chagásica crónica *Rev Argen Cardiol* 2005;73;2001-207
  76. Cabral HR, Novak I, Glocker M, Castro Viera G. Producción de interferón gamma por linfocitos pas-positivos infiltrados en corazones de pacientes chagásicos en los sitios de lesiones. *Rev Fac Cienc Méd. Córdoba* 2006; 63:47-52.
  77. Soares MB, Silva-Mota KN, Lima RS, Bellintani M, Pontes-de Carvalho L, Ribeiro-dos Santos R: Modulation of chagasic cardiomyopathy by interleukin-4. *Am J Pathol* 2001; 159:703-709.
  78. Suárez JA, Puigbó JJ, Nava Rhode JR, Valero JA, Gil Yépez C: Estudio anatomopatológico de 210 casos de miocardiopatías en Venezuela. *Act Méd Ven* 1968; 6:331-338.
  79. Mijares MS: Contribución al estudio de la patología de la miocarditis crónica Chagásica en Venezuela. Revisión de 130 autopsias. *Arch Hosp Vargas* 1965; 7:1-9.
  80. Suárez C., Puigbó JJ, Giordano H, Acquatella H, Combellas I, Gómez JR: Últimos avances de la patología cardíaca Chagásica. *Rev Fac Méd* 1994; 1:35-56.
  81. Puigbó JJ, Acquatella H, Suárez C, Loyo JG, Giordano H: Clinical Aspects of Chagas'disease in: Arrhythmia management in Chagas' disease. Cap. 4 ED Tentori Segura E. Hayes D. Futura Púb. Armonk, NY 2000, p 27, 49.
  82. Acquatella H: Avances recientes en miocardiopatía chagásica. *Rev Esp Cardiol* 1998; 82:152:157
  83. Suárez JA: Fibrosis segmentarla del corazón en las miocarditis Chagásica crónicas. *Arch Ven Med Trop Para Med* 1965; 5:152-169.
  84. Moia B, Rosenbaum MB, Nodern D: Aneurismas ventriculares en la miocarditis crónica Chagásica. *Rev Argent Cardiol* 1956; 22:113-125.
  85. Puigbó JJ, Hirschhaut E, Valecillos RI, Giordano H, Suárez C: Diagnosis of Chagas' cardiomyopathy. Non-Invasive techniques. *Post Med J* 1977; 53:527-532
  86. Combellas I, Puigbó JJ, Aquatella H, Tortoledo F, Gómez-Mancebo JR: Echocardiographic features of impaired left ventricular diastolic function in Chagas' Heart disease. *Br Heart J* 1985; 53:298-309.
  87. Suárez C, Avilán RJ: Pesos en corazones normales de Venezuela. *Gac Méd Caracas* 2004; 112:42-48.
  88. Suárez C, Mota JD, Puigbó JJ, Avilán RJ, Suárez JA, Zambrano F: Patrones Morfológicos de la Miocarditis Crónica Chagásica en autopsias forenses. *Gac Méd Caracas* 1999; 107: 517-530
  89. Soria RA, Galindo DW: Miocardiopatía crónica Chagásica: estudio de 82 casos. *Gac Méd Boliviana* 1966; 10:3-22.
  90. Puigbó JJ, Acquatella H, Giordano H, Suárez C: Análisis de los factores de riesgo en la cardiopatía chagásica crónica. En: Actualizaciones en la

- enfermedad de Chagas. Eds RJ Madoery, C Madoery MI Camera. Buenos Aires. Grafiquil, 1993 pp 57.
91. Chapadeiro E: Peso do coracao e intensidade do processo inflamatorio na cardiopatia chagastica crónica. Bol Ofic. San Pan 1967: 236- 239
  92. Rodríguez Salas IA: Evaluación anatómica y funcional en la miocardiopatía crónica chagástica por eco cardiografía. Universidad Central de Venezuela. Tesis para optar al Título de Especialista en cardiología. Facultad de Medicina. 1991.
  93. Arreaza N, Puigbo JJ, Acquatella H, Giordano H, Vallecillos RI, Mendoza I, Pérez JF, Hirschhaut P, Combellas I: Radionuclide evaluation of left ventricular function in chronic Chagas cardiomyopathy. J Nucl Med 1983; 24: 563-567
  94. Shozawa T, Kawamura K. Double nuclei in the regenerating process of cardiac muscle fibers in experimental diphtheria. En: Cardiomyopathy clinical, pathological and theoretical aspects. Eds. Morie Sekiguchi and E.G.J. Olsen. University of Tokyo Press, Tokyo. University Park Press, Baltimore 1980 p 185-196.
  95. Nadal-Ginard B. Generation of new cardiomyocytes in the adult heart: Prospects of myocardial regeneration as an alternative to cardiac transplantation. Rev Esp Cardiol 2001 May; 54 (5):543-50
  96. Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 5:8801-8805.
  97. Liu Y, Cigola E, Cheng W, Kajstura J, Olivetti G, Anversa P. Myocyte nuclear mitotic division and programmed myocyte cell death characterize the cardiac myopathy induced by rapid ventricular pacing in dogs. Lab Invest 1995; 6: 771-878
  98. Postani M, Arnaiz MR, Fichera L. Respuesta de las células musculares cardíacas a la infección con *Trypanosoma cruzi*. En: miocitos cardiacos y *T cruzi*. Problemática de la enfermedad de Chagas Simposio Internacional. Academia Nacional de Medicina. Buenos Aires, 19-20 abril 1999
  99. Lago N, Trainini JC, Genovese JC, Barisani JL, Mouras J, Guevara E y col. Tratamiento de la disfunción ventricular posinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos. Rev Argent Cardiol 2004;72:124-30.
  100. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Mota A, Pinho-Filho JA, Almeida AJ, et al. Early results of bone marrow cell transplantation to the myocardium of patients with heart failure due to Chagas disease. Arq Bras Cardiol 2006;87:159-66.
  101. Trainini JC, Lago N, Masoli O, Mouras J, Guevara E, Barisani JL y col. Implante cardíaco de mioblastos. Informe a tres años de seguimiento. Rev Argent Cardiol 2006;74: 304-7.
  102. Trainini JC, Barisani JL, Lago N, Bordone J, Mouras J, Ruiz A y col. Resultados alejados del implante miocárdico de células madre en la miocardiopatía chagástica. Rev Argent Cardiol 2007; 75:257-63.
  103. Puigbó JJ, Nava-Rhode JR, García Barrios H, Suárez JA, Valero JA, Vallecillos RI: Clasificación evolutiva de la miocardiopatía chagastica crónica. Act Med Ven 1968; nov-dic: 331.338.

104. Carrasco GHA, Palacios P E, Scorza C: Clinical, Histochemical and ultrastructural correlation in septal endomyocardial biopsies from chronic chagasic patients: detection of early myocardial damage. *Am Heart J* 1987;113: 716-724
105. Andrade ZA, Andrade SG, Sadigursky M, Wenthold RJ, Hilbert SL, Ferrans VJ: The indeterminate phase of Chagas's disease: Ultrastructural characterization of cardiac changes in the canine model. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57: 328-336.
106. Lopes RE, Chapadeiro E, Andrade Z Almeida HO. Anatomía patológica de corazones chagásicos asintomáticos fallecidos súbitamente de modo violento. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1981;76:189-
107. Vivarelli Curti RJ, Ribeiro Sánchez PC, Kamebly Bittencourt LA, Carvalahal SS. Revisao da classificacao anatomo-clínica da doenca de Chagas. *Arq Bras Cardiol* 1979;33:277-285
108. Acquatella H, Schiller NB, Puigbó JJ, Giordano H, Suárez JA, Casal H, Areaza N, Valecillos RI: M-Mode and two-dimensionanl echocardiography in chronic Chaga's heart disease. A clinical and pathologic study. *Circulation* 1980; 62:787-799.
109. Puigbó JJ, Giordano H, Suárez C, Acquatella H., Combellas I. Aspectos Clínicos en la enfermedad de Chagas en: Actualizaciones en la enfermedad de Chagas. Simposium Satélite Córdoba. ED. RJ Madoery, Camera 1992. p 27-38.
110. Anselmi A, Pifano F, Suárez J A, Gurdiel O: Myocardiopathy in Chagas' disease. Comparative study of pathologic findings in chronic human and experimental Chagas' myocarditis. *Am Heart J*; 1966;72:469-481.
111. Higuchi MDL, Morais CF, Vieira N, Perreira-Barretto AC, Bellotti G, Pileggi F: Histopathological criteria of myocarditis: a study based on normal heart, Chagasic heart and dilated cardiomyopathy. *J Circ J* 1990; 54:391-399.
112. Higuchi MDL, De Brito T, Reis MM, Barbosa A, Bellotti G, Pereira-Barreto AC, Pileggi F: Correlation between *T cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: Light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1993; 2: 101-106.
113. Higuchi MDL, Reis MM, Aiello VD, Benenuti LA, Gutierre PS, Bellotti G, Pileggi F: Association of an increase in CD8+ T cells with the presence of *Trypanosoma Cruzi* antigens in chronic, human, chagasic myocarditis. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56:485-489.
114. Molina H, Kierszenbaum F: Eosinophil activation in acute and chronic chagasic myocardial lesions and deposition of toxic eosinophil granule proteins on heart myofibers. *J Parasitol* 1989;75: 129-13
115. Cabral HRA: Mastocitos en contacto con fibras musculares cardíacas en miocardio de pacientes con cardiopatías de Chagas severa. *Pre Med Arg* 1988; 75:490-492.
116. Ferrans VJ, Milei J, Tomita Y, Storino RA: Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol* 1988;61:1137-1140.
117. Rossi MA: Patterns of myocardial fibrosis in idiopathic cardiomyopathies and chronic chagasic cardiopathy. *Can J Cardiol* 1991; 7:287-294.



118. Jaffé R, Domínguez A, Kozma C, Gavaller B: Bemerkungen zu pathogenese der Chagas Krankheit. *Z. Tropenmed u Parasitol* 1961; 12:137-146.
119. Jaffé R: Chronische Myokarditis in Venezuela. *Schweiz Z allg Path* 1956;18: 942.
120. Torres CBM: Alteracoes dos capilares do coracao na infeccao experimental pelo *Schyzotrypanum cruzi*. *An Acad Bras Ciencias* 1942:14-15
121. Andrade Z, Andrade S: Patogenia de miocardie Chagásica. A importancia da lesoes isquemicas. *Arq Bras Med* 1955; 45:279-288.
122. Rossi MA, Ramos SG: Coronary microvascular abnormalities in Chagas' disease. *Am Heart J* 1996; 132: 207-210.
123. Mijares MS: Contribución al estudio de la patología de la miocarditis crónica chagásica en Venezuela. Morfología. Relación anatomoclínica, revisión de 130 autopsias. Ed Grafos. Tesis. Facultad de medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas, 1964.
124. Doenhert H, Motta G: Enfermedad de Chagas y miocarditis crónica. *Arch Ven Méd Trop Parasi Méd* 1965; 5:124-150.
125. Suárez C, Puigbó JJ, Giordano H, Rumenoff L: Alteraciones de la microvasculatura en la miocarditis crónica Chagásica. Una posible causa de lesiones isquémicas. *Avances Cardiol* 1993; 13: 82-93.
126. Rossi MA, Souza AC: Is apoptosis a mechanism of cell death of cardiomyocytes in chronic chagasic myocarditis?. *Int J Cardiol* ;1999: 325-331
127. Koberle F: Patología y anatomía patológica de la enfermedad de Chagas. *Bol Ofic. Sanit Panam* 1961; 51:404-429
128. Suárez C .Contribución al estudio de la enfermedad de Chagas. Parasitismo de la fibra miocárdica en la miocardiopatía crónica. Tesis Doctoral. Fac Med UCV, 1976
129. Moser DR, Kirchhoff LV, Donelson JE: Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989; 27:1477-1482.
130. Avila HA, Pereira JB, Thiemann O et al: Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *J Clin Microbiol* 1993;31: 2421-2436.
131. Bellotti G, Bocchi EA, Villela de Moraes A, Higuchi MDL, Barbero, Marcial M, Sosa E: In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' Heart disease. *Am Heart J* 1996; 131:301-307
132. Milei J, Fernández Alonso G, Vanzulli S, Storino R, Matturi L, Rossi L: Myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic cardiomyopathy: immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1996; 5:209-219.
133. Lopez ER: Contribuicao ao estudo do ganglios cardiacos (sistema nervosa autonomo) en chagasicos cronicos. *Hosp.( Rio)* 1966; 70: 265-274
134. Tafuri WL: Pathogenesis of lesions of the autonomic nervous system of the mouse in experimental acute Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1970; 19:405-417

135. Oliveira ISM: A natural human model of intrinsic heart nervous system denervation: Chagas' cardiopathy. *Am Heart J* 1985; 10: 1092-1098.
136. Domínguez A, Suárez JA :Untersuchung über das intrakardiale vegetative Nervensystem bei Myocarditis chagásica. *Tropen Medizin und Parasitologie*. Stuttgart. Alemania.1963; 14:81-85.
137. Suárez JA: Los ganglios neurovegetativos intracardíacos en la patogenia de la miocarditis Chagásica. Tesis Doctoral. Fac Med. UCV. 1967. *Gac Méd Bahía* 1969; 69:73-86
138. Puigbó JJ, Giordano H, Iosa D: Chagas' cardioneuropathy: Cardiovascular autonomic dysfunction as the first manifestation of the disease. *Intern J Angiol* 1998;7: 123-129.
139. Machado CRS, Camargo ERS, Guerra LB, Moreira MC: Congestive heart failure: comparison of Chagas' heart disease with other dilated cardiomyopathy. *Hum Pathol* 2000; 31: 3-10.
140. Andrade ZA, Andrade SG, Oliveira GB, Alonso DR: Histopathology of the conducting tissue of the heart in Chagas' myocarditis. *Am Heart J* 1978;95:316-324.
141. Molina HA, Milei J, Rimoldi MR, Gonzalez Cappa SM, Storino RA: Histopathology of the heart conducting system in experimental Chagas' disease in mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1988;82:241-246.
142. Andrade ZA, Camara EJ, Sadigursky M, Andrade SG: Sinus node involvement in Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol* 1988;50: 153-158
143. Anselmi A, Gurdíel O, Suárez JA: Disturbances in the A-V conduction system in Chagas' myocarditis in the dog. *Circulation Res* 1967; 20:56-63
144. Cossio PM, Laguens RP, Diez C, Szarfman A, Segal A, Arana RM: Chagasic cardiopathy. Antibodies reacting with plasma membrane of striated muscle and endothelial cells. *Circulation* 1974;50: 1252-1259
145. Milei J, Storino R, Fernández GA, Beigelman R, Vanzulli S, Ferrans V: Endomyocardial biopsies in chronic Chagasic cardiomyopathy. Immunohistochemical and ultrastructural findings. *Cardiology* 1992;80: 424-437.
146. Peralta SA, Gwendolyn G, Xiong Y, Knudsenk, Martín J, Suárez C, Mota D, Mosca W. Overexpression of neural cell adhesion molecule (NCAM) in Chagas, myocarditis. *Hum Pathol* 2000; 31:149-155
147. Molina HA, Miles J, Storino R: Chronic Chagas' myocardopathy. Demonstration of in vivo bound immunoglobulins in heart structures by the immunoperoxidase technique. *Cardiology* 1984;71:297-306.
148. Vieira LM, Vieira AR, Albanesi Filho FM, Cruz P di M, da Cunha GB, Sarno En: Determination of EVI antibodies in chronic Chagas' cardiopathy. *Arq Bras Cardiol* 1985; 45: 413-416
149. Khoury EL, Ritacco V, Cossio PM, Laguens RP, Szarfman A, Diez C, Arana RM: Circulating antibodies to peripheral nerve in American trypanosomiasis ( Chagas' disease) *Clin Exp Immunol* 1979; 36: 8-15
150. Reis DD, Jones EM, Tostes S: Expression of major histocompatibility complex antigens and adhesion molecules in hearts of patients with chronic Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:192-200
151. Molina HA, Kierszenbaum F: Immunohistochemical detection of deposits of eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil peroxidase in the myocardium of patients with Chagas' disease. *Immunology* 1988;64:725-731.

152. Andrade SG, Grimaud JA, Stocker-Guerret S: Sequential changes of the connective matrix components of the myocardium (fibronectin and laminin) and evolution of cardiac fibrosis in mice infected with *T. cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40:252-260
153. Sánchez JA, Milei J, Yu ZX, Storino R, Wenthol R Jr, Ferrans VJ: Immuno-histochemical localization of laminin in the hearts of patients with chronic chagasic Cardiomyopathy: relationship to thickening of basement membranes. *Am Heart J* 1993;126:1392-1401.
154. Llop E, Rothhammer F, Acuña M, Apt W, Arribada A: HLA antigens in Chagas cardiomyopathy: new evidence based on a case-control study. *Rev Med Chil* 1991;119:633-6336
155. Layrisse Z, Fernández MT, Montagnani S, Matos M, Balbas O, Herrera F, Colorado I A, Cataliotti F, Acquatella H: HLA-C\*03 Is a risk factor for cardiomyopathy in Chagas disease. *Hum Immunol* 2000; 61:925-929
156. Barbosa AJA: Método imunocitoquímico para a identificação de amastigotas do tripanosoma cruzi em cortes histológicos de rotina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1985; 27:293-297.
157. Carrasco HA, Palacios PE, Scorza C, Rangel A, Inglessis G, Sanoja CL, Molina C, Fuenmayor A: La biopsia miocárdica: ¿ un recurso diagnóstico? Experiencia clínica en pacientes chagásicos y con otras miocardiopatías. *Rev Lat Cardio* 1982; 3:105-113
158. Ferreira-Barreto AC, Mady C, Arteaga-Fernández E, Stolf N, Lopez EA, Higuchi MD, Bellotti G, Pileggi F: Right ventricular endomyocardial biopsy in chronic Chagas' disease. *Am Heart J* 1986; 11: 307-312.
159. Higuchi ML, Morais CF, Ferrerita-Barreto AC, Lopes EA, Stolf N, Bellotti G, Pileggi F: The role of active myocarditis in the development of Heart failure in chronic Chagas' disease : a study based on endomyocardial biopsias. *Clin Cardiol* 1987;10:665-670.
160. Mota JD, Suárez C, García Tamayo J: Biopsia endomiocárdica en miocarditis Chagásica e inespecífica. *Gac Méd Caracas* 1998; 106:358-368.
161. Ochs DE, Hnilica V, Moser DR, Smith JH, Kirchhoff LV: Postmortem diagnosis of autochthonous acute chagasic myocarditis by polymerase chain reaction amplification of a species-specific DNA sequence of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 1996;S45: 526-529
162. Elias F, Vigliano CA, Laguens RP, Levin MJ, Berek C: Análisis of the presence of *Trypanosoma cruzi* in the heart tissues of three patients with chronic Chagas' Heart disease. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 243-247.
163. Añez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Fuenmayor C, Gonzalez N, Percoco G et al: Myocardial parasite persistencia in chronic chagasic patients. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:726-732.
164. Zingales B, Rondinelli E, Degraeve W, Da Silveira JF, Levin M, Le Paslier D, Modabber F et al: The *Trypanosoma cruzi* Genome Initiative. *Parasitol Today* 1997; 13:16-22.
165. Espinosa M R: La enfermedad de Chagas: ¿Una epidemia con los días contados? *Avances Cardiol* 2002; 21:77-78.
166. Davalos C V, Maroun SA, Mata CDM: Enfermedad de Chagas en una población endémica. *Rev Fac Med* 1999; 22:117-119.
167. VIII Reunión de de la Comisión Intergubernamental (CI) de la iniciativa andina de control de la transmisión vectorial y transfusional de la enfermedad de Chagas *Bol Mal Salud Amb* v.48 n.2 Maracay dic. 2008

168. Urbina JA: Nuevos avances en el tratamiento específico de la enfermedad de Chagas: ensayos experimentales con inhibidores de la síntesis de ergosterol. *Avances Cardiol* 2001; 21:86-87.
169. Leiby DA, Rentas FJ, Nelson KE, Stambilis VA, Ness PM, Parnis Ch, Mc Allister HA, et al: Evidence of *Trypanosoma cruzi* infection (Chagas'disease) among patients undergoing cardiac surgery. *Circulation* 2000;102:2978-2982.
170. Storino R: La cara oculta de la enfermedad de Chagas. *Avances Cardiol* 2001; 21:39-54.